UNIVERSITÉ DE CLERMONT

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969 N 90

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Cécile CERF

Pharmacien

Ancien Interne des Hôpitaux de Clermont-Ferrand

née le 28 Juillet 1945 à AUTRANS (Isère)

Présentée et soutenue publiquement le 16 Décembre 1969

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES ACIDES PHENOLS

STRUCTURES MOLECULAIRES

ET ACTIVITES PHARMACODYNAMIQUES

Président du Jury : M. BASTIDE, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE , Professeur
M. CLUZEL , Professeur
M. DORIER, Chargé de Cours.

CLERMONT - REPRODUCTION

64, avenue Jean Noellet

63 - AUBIERE (1969)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546615_0026

UNIVERSITÉ DE CLERMONT

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969 N

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Cécile CERF

Pharmacien

Ancien Interne des Hôpitaux de Clermont-Ferrand

née le 28 Juillet 1945 à AUTRANS (Isère)

Présentée et soutenue publiquement le 16 Décembre 1969

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES ACIDES PHENOLS

STRUCTURES MOLECULAIRES

ET ACTIVITES PHARMACODYNAMIQUES

Président du Jury : M. BASTIDE, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE , Professeur
M. CLUZEL , Professeur
M. DORIER, Chargé de Cours.

CLERMONT - REPRODUCTION

64, avenue Jean Noellet

63 - AUBIERE (1969)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE
de
CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU, M. POMMÉ

I - Professeurs Titulaires

MM.	BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
	BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
	BAUDON	- Clinique Obstétricale
	BERGER	- Chimie Analytique
	BERGERON	- Pathologie Médicale
	COULET	- Botanique et Microbiologie
	CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
	DASTUGUE	- Biochimie Médicale
	DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
	DELAGE	- Anatomie Pathologique
	FEBVRE	- Pharmacie Galénique
	GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
	GRAS	- Clinique Médicale A
	JACQUEMET	- Technique Chirurgicale
	JALLUT	- Séméiologie Médicale
	LATAIX	- Pathologie chirurgicale
	MERCIER	- Anatomie
	MEYNIEL	- Biophysique médicale
	MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
	PETIT	- Médecine Légale et Médecine Sociale
	POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
	POURRAT	- Matière Médicale
Mele	RAMPON	- Thérapeutique
MM.	ROUHER	- Clinique ophtalmologique
	TERRASSE	- Clinique médicale B
	THIEBLOT	- Physiologie
	THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
	TRONCHE	- Pharmacie Chimique
	TURCHINI	- Histologie et Embryologie
	VAURS	- Bactériologie et Hygiène
	WILLEMIN-CLOG	- Clinique médicale infantile

II - Professeurs Titulaires à titre personnel

M.	CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M.	VIALLET	- Electro-Radiologie.
M.	ALFIERI	- Biophysique Médicale

III - Professeurs sans Chaire.

Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
M. CLUZEL	- Bactériologie
M. DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
Mme GAILLARD	- Physique pharmaceutique
M. MENUT	- Pédiatrie et Puériculture
M. PIGNIDE	- Médecine générale

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

M.

Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
Mme POURRAT	- Matière Médicale
M. RAYNAUD	- Pédiatrie
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique.

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orthopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phtisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie.

VI - Délégués dans les fonctions de Maîtres de Conférences.

MM. BOUCHER	- Physiologie
COUQUELET	- Pharmacie chimique
GENTOU	- Biochimie médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et thérapeutique
Mme PETIT	- Chimie pharmaceutique
MM. PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal	: M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque	: M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Meis et Amicis

AVANT - PROPOS

Qu'il nous soit permis, au début de ce travail d'exprimer notre profonde gratitude à tous nos Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie. L'excellent enseignement qu'ils nous ont prodigué tout au long de nos études restera notre meilleur guide au cours de notre vie professionnelle.

Nos remerciements vont plus particulièrement

à notre Maître, Monsieur le Professeur BASTIDE, qui nous a accueillie dans son laboratoire, a inspiré le sujet de ce mémoire et qui manifeste une fois de plus l'intérêt qu'il nous porte en présidant ce Jury de Thèse. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

à notre Maître, Monsieur le Professeur TRONCHE, qui a partagé la direction de ce travail et dont les conseils et l'inépuisable bienveillance nous ont été précieux. Qu'il soit assuré de notre sincère gratitude.

à Monsieur le Professeur CLUZEL qui renouvelle aujourd'hui l'estime qu'il a bien voulu toujours nous témoigner.

à Monsieur DORIER qui nous fait l'honneur de participer à ce Jury de Thèse.

à Monsieur le Professeur Agrégé COUQUELET dont la compétence et la gentillesse ont facilité notre travail journalier.

Nous tenons également à témoigner notre profonde reconnaissance à Messieurs Henri et René CHIBRET.

L'inestimable aide qu'ils nous ont apportée en nous offrant la collaboration de leurs Laboratoires a permis de mener à bien cet ouvrage.

Enfin, nous tenons à associer ici dans une même pensée nos camarades d'étude ainsi que tout le personnel du Laboratoire de Chimie Biologique et Pharmacodynamie et du Laboratoire de Pharmacie Chimique de notre Faculté. Que cette Thèse soit pour eux un témoignage de sympathie.

INTRODUCTION

L'introduction des acides phénols en thérapeutique remonte à plus d'un siècle, tout au moins en ce qui concerne les plus simples d'entre eux. L'acide orthohydroxybenzoïque, plus connu sous le nom d'acide salicylique a été découvert en 1839 et ses propriétés antibactériennes, antalgiques et anti-inflammatoires sont connues depuis longtemps. De même les acides para hydrobenzoïques sont connus et utilisés en raison de leurs effets antibactériens et antifongiques Cependant l'effet angioprotecteur des acides phénols, pour général qu'il soit, a été beaucoup moins étudié. Nous pouvons même affirmer qu'il n'a été que rarement signalé. C'est la présence d'acides phénols plus ou moins complexes et même d'acides hydroxyphényl - alkylcarboxyliques dans les produits de dégradation des substances flavoniques qui nous a amené à nous intéresser à ces composés pour leurs propriétés vasculaires.

Nous avons voulu rassembler dans ce mémoire quelques propriétés physico-chimiques des acides-phenols pour les comparer à leur activité capillorotrope et à leur propriété vis à vis de l'oxydation de l'acide ascorbique. Ce travail est le fruit de la collaboration du Laboratoire de Chimie Biologique et Pharmacodynamie et du Laboratoire de Pharmacie Chimique de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand déjà associés dans un certain nombre d'études concernant la structure moléculaire et l'activité biologique.

Nous rapportons dans une première partie bibliographique, diverses données concernant la chimie des acides phénols, leur origine chimique ou biologique, leurs principales propriétés pharmacologiques signalées dans la littérature ou utilisées. La seconde partie concerne l'exposé de nos travaux expérimentaux. Nous décrirons d'abord les techniques physico-chimiques et pharmacologiques puis nous exposerons les résultats obtenus pour chaque produit , en groupant les différents composés par série chimique. Nous tenterons enfin d'établir des essais de corrélation structure activité en observant la prudence et la réserve qu'imposent de telles hypothèses dans l'état actuel de nos connaissances.

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I - GENERALITES

Il est très difficile de présenter une étude rationnelle de la chimie des acides phénols, de leur origine et de leurs propriétés pharmacologiques, tant les renseignements fournis par la littérature sont intriqués dans ces divers domaines. Au risque de nous répéter, nous tenterons cependant un exposé de ces divers aspects.

Nous commencerons par indiquer les limites du sujet en précisant que les acides phénols envisagés dans nos études répondent à la structure générale suivante : (fig. 1)

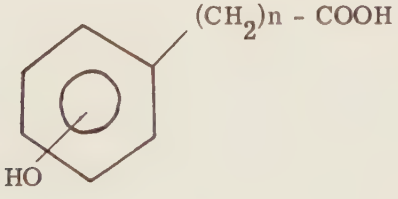


Figure N° 1

Dans cette formule, le nombre n est représenté par les valeurs suivantes : 0, 1 ou 2. Lorsque le carbonyle carboxylique est fixé directement sur le cycle benzénique, il s'agit d'acides hydroxybenzoïques. Lorsqu'un atome de carbone est inséré entre le cycle benzénique et le carbonyle carboxylique, il s'agit d'acides hydroxyphénylacétiques. Lorsque deux atomes de carbone séparent le cycle benzénique du groupement - COOH, les produits sont connus sous la dénomination d'acides hydroxyphénylpropioniques. Dans ce

dernier cas, une désaturation peut apparaître dans la chaîne hydrocarbonée, conduisant aux acides hydroxycinnamiques..

L'hydroxyle phénolique, lorsqu'il est unique, peut occuper les positions ortho, méta ou para, par rapport à la chaine hydrocarbonée. Mais notre étude englobe également des composés di ou tri phénoliques. De plus, une ou plusieurs fonctions phénols peuvent être méthoxylées.

Un certain nombre de ces composés ont reçu des noms consacrés par l'usage et qui tirent leur origine de leur présence dans divers végétaux. Ainsi en est-il de l'acide vanillique, de l'acide gallique, de l'acide caféique, de l'acide cinnamique.

II - CHIMIE DES ACIDES PHENOLS

Nous n'envisagerons pas dans notre travail, les procédés d'obtention des acides phénols à partir de produits naturels ou par voie synthétique. Malgré la fréquence de ces composés chez les végétaux, comme nous le verrons plus loin, leur isolement n'est pas toujours aisé, ce qui les rend onéreux. Pareille remarque peut être faite à propos de leur synthèse, souvent d'apparence aisée, mais qui conduit à des rendements médiocres par suite de formation de produits secondaires.

A - CARACTERES ORGANOLEPTIQUES -

La plupart des acides phénols se présentent sous forme de substances blanches, microcristallines, à point de fusion bien défini. Certains d'entre eux se colorent lentement à la lumière en formant des dérivés d'oxydation. Il paraît donc souhaitable de les conserver dans des récipients colorés. Ils sont inodores mais leur contact avec la muqueuse nasale peut déclencher des éternuements. Ainsi en est-il en particulier de l'acide salicylique. Leur saveur, à la fois acide et amère, est plutôt désagréable.

B - PROPRIETES PHYSIQUES -

Les acides phénols sont peu solubles dans l'eau froide. Ils sont davantage solubles dans l'eau chaude et en milieu alcalin. Malheureusement, les solutions de sel de sodium, par exemple, se colorent fortement à la lumière et à la chaleur, ce qui rend leur conservation difficile.

En ce qui concerne les solvants organiques, nous distinguerons, dans l'ordre, les solvants polaires tels l'alcool, le dioxane, les polyols, l'éther qui semblent les

plus favorables, puis les solvants chlorés et enfin les solvants non polaires qui sont dans l'ensemble de peu d'intérêt.

Les solutions aqueuses ou les solutions alcooliques d'acides phénols présentent une ou plusieurs bandes d'absorption dans l'UV, dans les régions du spectre comprises entre 200 et 280 nm. Ces bandes sont de forte intensité et les coefficients d'absorption moléculaire sont en général élevés (65). Le pH des solutions influe fortement sur le spectre UV : les déplacements bathochromes sont la règle en solution alcaline, et leur intensité est souvent importante (44). Ce déplacement serait dû à l'ionisation du ou des groupements hydroxyles et carboxyliques.

Ainsi, dans le cas des acides hydroxy-3 et hydroxy-4 benzoïques, les spectres sont exactement superposables au-dessous de pH 3 ; mais entre pH 3 et pH 11, la valeur du maximum d'absorption dépend étroitement du pH. Au-delà du pH 11, les fonctions phénol et carboxyle sont l'une et l'autre intégralement ionisées et les spectres redeviennent superposables (52).

C - PROPRIETES CHIMIQUES -

Deux propriétés retiendront particulièrement notre attention : La formation de complexes colorés et la formation de liaison hydrogène inter ou intramoléculaires.

On connait depuis longtemps le comportement de l'acide salicylique qui fournit avec $FeCl_3$ une coloration bleue violacée dont la limite de sensibilité est de 1 pour 100.000 (42). Cette coloration a été souvent utilisée pour les dosages de l'acide acétylsalicylique et de l'aspirine estérase dans les liquides biologiques (6). Le même acide salicylique fournit encore des réactions colorées sous l'influence d'autres réactifs tels que l'acide sulfurique formolé.

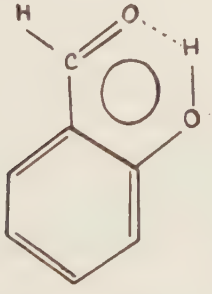
L'acide gallique, composé triphénolique, se colore intensément lui aussi en bleu violacé et la teinte obtenue fut même proposée pour le dosage colorimétrique du fer dans le sang (73).

Comme les composés phénoliques, les acides phénols, surtout s'ils sont polyphénoliques, forment facilement des chélates colorés avec les ions métalliques en particulier le fer et l'aluminium. On attribue à ce phénomène la coloration qui se produit dans la pomme de terre et qui serait due à la formation d'un complexe entre le fer et l'acide chlorogénique (7).

Signalons aussi que les acides phénols peuvent engendrer des réactions colorées par formation de colorants azoïques.

Enfin d'autres réactions colorées, qui se produisent chez les végétaux, s'expliqueraient par des mécanismes enzymatiques. Ainsi l'acide caféïque et ses dérivés sont rapidement oxydés par des phénolases et donnent des produits colorés en brun (75) (3). L'oxydation de l'acide chlorogénique et de ses analogues pourrait être suivie de l'oxydation couplée d'autres phénols qui normalement ne sont pas attaqués par les phénolases. Les composés quinoniques formés à partir de l'acide chlorogénique présentent un très haut potentiel redox. Ils sont capables de se coupler avec les groupements aminés ou sulfhydrilés des amino-acides pour donner des produits très intensément colorés (28).

La formation de liaison hydrogène est fréquente et revêt peut-être une certaine importance dans les phénomènes biologiques. Elle peut affecter une forme intermoléculaire dans la plupart des cas mais elle peut aussi, plus particulièrement dans le cas des composés ortho hydroxycarboxyliques affecter une forme intramoléculaire. Nous citerons, à titre d'exemple, le comportement de l'acide salicylique (61) (Fig. n° 2).



- Figure N° 2 -

L'influence de la liaison hydrogène interne sur le spectre d'absorption et sur les propriétés physico-chimiques se manifeste plus particulièrement à l'état dilué dans lequel elle existe encore contrairement à la liaison intramoléculaire. Il est ainsi possible de faire la distinction entre les deux types de liaison (41).

La liaison hydrogène a aussi une influence sur l'acidité : dans le cas des acides hydroxybenzoïques, l'attraction protonique du groupement carboxyle est partiellement saturée et la toxicité de l'anion devient en conséquence plus faible. L'acide salicylique et plus encore l'acide dihydroxy 2, 6 benzoïque sont plus forts que leurs isomères (37).

L'ionisation des acides benzoïques plus ou moins substitués, en particulier par des groupements - OH, dépend de la nature de ces substituants et de leurs effets électroniques. Elle serait donc en partie prévisible (53).

III - ORIGINE DES ACIDES PHENOLS

A - REPARTITION DANS LA NATURE -

Tous les acides phénols existent dans la nature et plus exactement dans le règne végétal. On les rencontre aussi bien chez les monocotylédones que chez les dicotylédones, dans de nombreuses espèces. Ils se répartissent dans tous les organes végétaux : tige, bois, écorce, feuille, fruit, racine, fleur.

Nous reproduisons ci-joint un tableau emprunté à l'ouvrage de GEISMAN qui donne une idée de la grande variété des espèces intéressées (Fig. n° 3).

B - APPARITION D'ACIDES PHENOLS AU COURS DE DIFFERENTS METABOLISMES.

La présence des acides phénols chez les végétaux pose un important problème. Certains d'entre eux représentent en effet, un stade terminal de la biosynthèse, tandis que d'autres assez nombreux, représentent des produits intermédiaires du métabolisme des composés flavoniques. C'est pourquoi l'étude des acides phénols est souvent associée à celle de ces composés.

Pour faciliter notre exposé, nous envisagerons successivement deux aspects dans l'étude de l'origine naturelle des acides phénols : un aspect biogénétique et un aspect catabolique.

Tableau N° 3 - PRINCIPAUX CONSTITUANTS PHENOLIQUES DES PLANTES COMESTIBLES

(BATE, SMITH E. C.)

(GEISSMAN T. A. , The Chemistry of flavonoïd compounds) Pergamon Press, Oxford 1962, 516 à 524.

I - MONOCOTYLEDONES

Ordre	Famille	Espèces comestibles	Constituants phénoliques
Hélobiales			Aucun de signalé
Glumales	Graminées	Céréales : grain de riz, blé, orge avoine, maïs, millet Pousse de bambou, sucre de canne	Anthocyanines Flavones Acide férulique et ses dérivés.
	Cyperacées		Aucun de signalé
Spadiciflores ou Spathiflorales	Palmacées	Noix de coco Sagou	Flavonols, Leucoanthocyanines, Acides hydroxycinnamiques
	Aracées	Taro	Flavonols, Leucoanthocyanines, Acides hydroxycinnamiques.
Liliales ou Liliflorales	Broméliocées	Ananas	Acide sinapique
	Commélinacées		Aucun de signalé
	Liliacées	Oignon, ail, asperge	Flavonols, acides hydroxycinnamiques
	Amaryllidacées	Agave	Flavonols, Acides hydroxycinnamiques

Ordre	Famille	Espèces comestibles	Constituants Phénoliques
Liliales (suite)	Taccacées	Arrowroot	Flavonols, Acides Hydroxycinnamiqes
	Dioscorea-cées	Igname	Acide caféique
	Iridacées	Safran	Aucun de signalé
Scitami-nales	Musacées	Banane	Leucoanthocyanines, Flavonols, Tyramine Sérotonine, Acide férulique
	Zinzibéra-cées	Gingembre, Curcuma, Cardamone	Leucoanthocyanines Curcumin : diferuloyl-méthane
	Maranta-cées		Aucun de signalé
Miorchi-dales	Orchidales	Vanille	Dérivés de la vanil-line (Acide, alcool, Aldéhyde).
II - DICOTYLEDONES			
Pipérales	Pipéracées	Poivre	Allyl phénols, Acides hydroxycinnamiques
Juglanda-les	Juglanda-cées	Noix de Pecan Noix	Juglone, Flavonols, Leucoanthocyanines, Acides hydroxycin-namiques.
Fagales	Bétulacées	Noisette	Flavonols, leucoan-thocyanines, acide ellagique
	Fagacées	Chataigne	Flavonols, leucoan-thocyanines, acide ellagique.

Ordre	Famille	Espèces comestibles	Constituants phénoliques
Urticales	Ulmacées		Acides hydroxycinnamiques
	Moracées	Figue	Leucoanthocyanines, Flavonols
	Cannabinacées	Houblon	Parfois flavones
	Urticacées		Leucoanthocyanines Acides hydroxycinnamiques.
Protéales	Protéacées		Flavonols
Polygonales	Polygonacées	Rhubarbe, Sarazin	Flavonols, Leucoanthocyanines, Hydroxyanthraquinones Acide Caféique
Centrospermales	Chénopodiacées	Betterave épinard	Flavonols Acide Férulique
	Amarantacées	Amarante	Flavanols, Acide férulique
	Nyctaginacées		Leucoanthocyanines
	Azoïcacées		Flavonols
	Portulacées		Flavonols, leucocyanidines
	Basselacées		Flavonols
Ranales	Nymphacées	Lotus	Leucoanthocyanines Flavonols, parfois Acide ellagique
	Lardizabalacées	Akelsia	Flavonols, Acide caféique

Ordre	Famille	Espèces Comestibles	Constituants phénoliques
Ranales (suite)	Berberidacées.	Epine, vinette	Flavonols, Acide caféique
	Magnoliacées	Badiane	Phénols, leucoanthocyanines, flavonols, Acide caféique
	Anonacées	Asima triloba	Acide caféique, leucocyanidines
	Myristacées	Muscade	Isoprényl phénols, flavonols
	Monimiacées	Boldo	Flavonols, Acides hydroxycinnamiques
	Lauracées	Avocat Cannelle	Aldéhydes et Acides phénols
Rhaedeales	Capparidacées	Capre	Flavonols, Acide sinapique
	Crucifères	Choux, cresson moutarde, rutabaga, radis	Leucoanthocyanines Acide sinapique, anthocyanines
Rosales	Saxifragacées	Cassis, Groseilles	Leucoanthocyanines Flavonols
	Rosacées (pommoïdées)	Pomme, poire	Flavonols, anthocyanines, Acide caféique Catéchine
	(Rosoïdes)	Prune, abricot pêche, fraise, framboise	Acide ellagique, flavonols, flavanones et flavones
	(Chrysobalanées)	Chrysobalanus Icaco	Flavonols, anthocyanines, Acide caféique catéchine
	Légumineuses (Mimosées)		Leucoanthocyanidines

Ordre	Famille	Espèces Comestibles	Constituants phénoliques
Rosales	(Césalpinées)	Caroube	Ellagitanins, Anthraquinones, Isoflavones
	(Papillonacées)	Arachide, pois haricot, lentille	Leucoanthocyanines flavones, flavonols.
Géraniales	Oxalidacées		Leucoanthocyanines
	Erythroxylacées	Coca	Leucoanthocyanines acides hydroxycinnamiques
	Rutacées	Orange, citron pamplemousse limon	A. Methoxycinnamiques, Isoprénylcoumarines, flavones
	Méliacées	Santal (fruit)	Flavonols, acide férulique
	Malpighiacées	Malpighia glabra	Leucocyanidines
Euphorbiales	Euphorbiacées	Manihot	Flavonols
Sapindales	Empétracées		Anthocyanines
	Anacardiacées	Pistache, cachou	Alkyl phénols, flavonols
	Aquifoliacées	Maté	Flavonols, anthocyanines, Acide caféique
	Célastracées	Khat	Leucoanthocyanines Flavonols
	Acéracées	Erable (sirop)	Flavonols, Acide Sinapique
	Sapindacées	Guarana Litchi	Flavonols, catéchine

Ordre	Famille	Espèces comestibles	Constituants phenoliques
Rhamnales	Rhamnacées	Lotus, Jujube	Flavonols, leucoanthocyanines
	Ampélidacées	Vigne : raisin	Anthocyanines, catéchine, flavonols, Acide caféique
Malvales	Malvacées		Flavonols
	Bombacées		Flavonols
	Sterculiacées	Cacao, cola	Flavonols, catéchine Acide caféique
Pariétales	Actinidacées		Leucoanthocyanines, Flavonols
	Gariocaracées		Aucun de signalé
	Théacées	Thé	Catéchine, flavonols, Acides hydroxycinnamiques, Acide gallique.
	Guttiféracées	Mangoustan, Manmée	Flavonols, flavones, xanthone
	Passifloracées	Passiflore	Aucun de signalé
	Caricacées	Papaye	Acun de signalé
	Flacourtiacées		Acide férulique
Opuntiales	Cactacées	Opuntia	Alcaloïdes phénoliques
Myrtales	Punicacées	Grenadier	Acide ellagique
	Lécythidacée	Noix du brésil Lécythis	Acide ellagique Acide gallique

Ordre	Famille	Espèces comestibles	Constituants phénoliques
Myrtales	Combrétacées		Acide ellagique et dérivés.
	Myrtacés	Girofle, piment Goyave	Acide ellagique, Chromones, allylphénols
	Onagracées		Acide ellagique
Ombellaces	Araliacées		Aucun de signalé
	Ombellifères	Carottes, céleri, persil, cumin coriandre, anis	Flavonols, flavones, coumarines, phénols, Acides caféique et férulique.
	Cornacées	Cornouiller	Flavonols, acide ellagique
Ericales	Ericacées	Myrtille Uva-ursi	Leucoanthocyanines, flavonols, anthocyanines
Ebenales	Sapotacées		Leucoanthocyanines, flavonols
	Ebénacées	Kaki	Id. + Naphtoquinones
Gentianales	Oléacées	Olive	Flavonols, lignanes
Tubiflorales	Convolvulacées	Patate douce, jalap	Acide caféique, scopoletin
	Verbénacées		Acide caféique
	Labiées	Thym, sauge, marjolaine, origan	Allyl et Isopropyl Phenols Acides caféique et férulique
	Solanacées	Tomate Physallis Aubergine Pomme de terre	Flavonols Acides caféique et férulique Anthocyanines

Ordre	Famille	Espèces comestibles	Constituants phénoliques
Rubiales	Rubiacées	Café	Catéchine, flavonols, Acide caféique
	Caprifoliacées	Sureau	Acide caféique Flavones, coumarines
Campanulales	Cucurbitacées	Concombre, melon, pastèque	Acide caféique
Castérales	Composées	Scorsonaire, laitue, chicorée, artichaut	Flavonols, flavones Acide caféique coumarines

1 - Aspect biogénétique.

Le premier intéresse surtout les acides hydroxycinnamiques, en particulier l'acide caféique ou l'acide chlorogénique (Fig. 4).

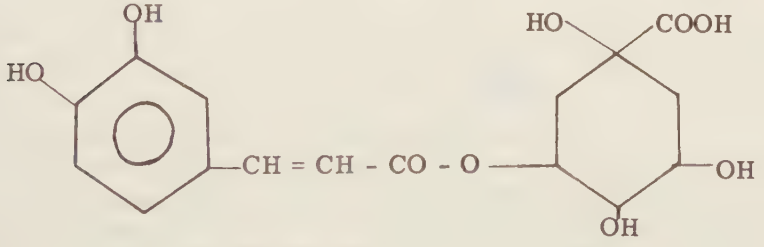


Figure N° 4

qui résulte d'une estérification entre l'acide caféique et l'acide quinique.

DELAUNAY (21) présente ainsi les différentes étapes de la formation de l'acide caféique à partir de l'acide déhydroquinique. Il y a d'abord apparition d'acide déhydroshikimique puis d'acide shikimique (Fig. 5).

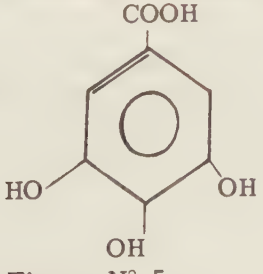


Figure N° 5

Ce dernier est phosphorylé puis, par suite de réactions de réduction et de déshydratation, le cycle benzénique est créé et on obtient l'acide phényllactique (Fig. 6).

Une nouvelle déshydratation puis une hydroxylation en 3 et 4 du cycle benzénique fournit l'acide caféique qui apparait ainsi comme un produit du cycle de la photosynthèse. On rencontre l'acide shikimique et l'acide chlorogénique dans la biogénèse des pigments flavoniques.

CH_2 - CHOH - COOH

Figure N° 6

Selon DEAN également, c'est la voie de l'acide shikimique qui conduit à la formation des acides férulique , caféique, syringique, gallique ainsi d'ailleurs qu'à d'autres acides aromatiques communs chez les végétaux. Le problème de l'introduction ou de la disparition des groupements hydroxyles n'est pas considéré comme parfaitement éclairci par cet auteur (19).

L'hydroxylation de l'acide para coumarique, qui le transforme en acide caféique, peut s'accomplir sous des influences enzymatiques ; VAUGHAN (71) a démontré récemment qu'une enzyme présente dans les feuilles de Beta Vulgaris était capable d'opérer une telle transformation en présence d'ascorbate.

Les acides phénols se constituent souvent lors de la synthèse des flavonoïdes. Leur incorporation aux molécules flavoniques a pu être étudiée grâce aux méthodes isotopiques, ceci en particulier avec l'acide cinnamique et ses dérivés hydroxylés.

PLA (57) a étudié l'incorporation des acides shikimiques ^{14}C 1-2 et trans-cinnamique ^{14}C 3 dans la delphinidine et dans la cyanidine.

2 - Origine catabolitique :

Le deuxième aspect important concernant l'origine des acides phénols est leur apparition en tant que produits de dégradation de composés anthocyaniques. Selon DELAUNAY, on observe une néoformation d'acides phénols à partir d'anthocyanosides estérifiés par les acides coumariques et caféiques. On peut rapprocher de cette origine les acides phénols libérés par hydrolyse de dérivés osidiques largement répandus chez les végétaux tels que les glycosides des acides hydroxycinnamiques. Enfin, la dégradation microbienne de l'édifice anthocyanique aboutit à la formation d'acide hydroxy α méthoxycinnamique. Le malvoside, par exemple, libéré du phloroglucinol et de l'acide sinapique (Fig. 7).

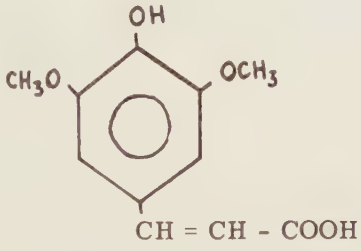


Figure N° 7

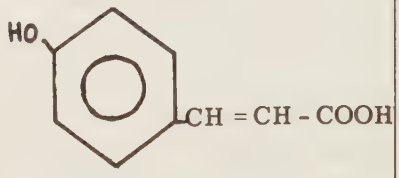
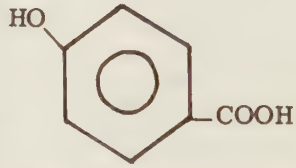
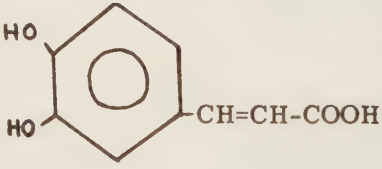
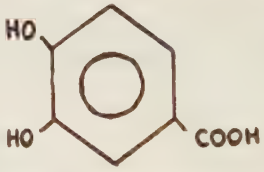
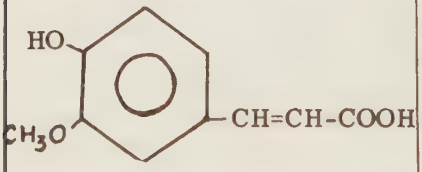
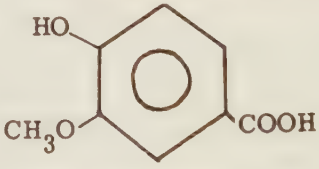
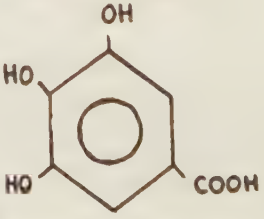
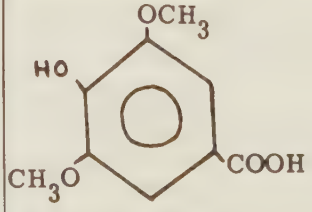
Par β oxydation et déméthoxylation, ce dernier est converti en acide gallique. Les anthocyanes dihydroxylées en 3', 4' donnent naissance à l'acide protocatéchique.

Nous donnons ci-contre (Fig. 8) à titre d'exemple, un tableau résumant l'origine des acides phénols du vin selon DELAUNAY.

Notons enfin que la dégradation des composés anthocyaniques peut s'opérer dans des conditions plus brutales, telles que la fusion alcaline avec la potasse ou l'oxydation par le perhydrol (29). Les acides phénols qui apparaissent dans ces circonstances sont les acides para hydroxybenzoïque, protocatéchique, gallique, syringique. Ils se forment

aux dépens du cycle C des composés anthocyaniques.

Figure N° 8 - ORIGINE DES ACIDES PHENOLS DU VIN

Série Cinnamique (biogénèse directe)	Série Benzoique (dégradation des Anthocyanes)
1) Acides libres :	
	
Acide para coumarique	Acide parahydroxybenzoïque
	
Acide caféique	Acide protocatechique
	
Acide férulique	Acide vanillique
	
	Acide gallique
2) Acides combinés	
Acide paracoumarylquinique Acide chlorogénique Acide feruloylquinique	Acide Syringique

Pour conclure cet exposé sur l'origine des acides phénols, nous envisagerons d'abord les acides hydroxy benzoïques puis les acides hydroxycinnamiques qui sont le plus souvent mentionnés dans la littérature.

C - ACIDES HYDROXY BENZOIQUES -

L'acide ortho hydroxybenzoïque ou acide salicylique, découvert par PIRIA en 1839 dans certaines essences végétales, puis obtenu par synthèse par KOLBE en 1874 est certainement le plus connu des acides phénols en pharmacie. L'acide acétylsalicylique ou aspirine est universellement employé et jusqu'à ces dernières années, les tonnages fabriqués ont été en constante augmentation. Près de trois quarts de siècle n'ont pas épuisé la renommée de ce produit.

On a utilisé en thérapeutique de nombreux salicylates métalliques ainsi que des éthers et esters variés dont certains se retrouvent dans les essences végétales comme le salicylate de méthyle. D'autres sont purement synthétiques comme le salicylate de phényle, de benzyle, de naphtyle, etc...

L'acide para amino salicylique a été introduit en thérapeutique beaucoup plus récemment comme tuberculostatique.

Parmi les autres acides hydroxybenzoïques, c'est l'acide para hydroxybenzoïque qui est le plus connu. Il est utilisé en pharmacie comme conservateur soit sous forme d'acide, soit sous forme d'ester méthylique (Nipagine★) ou propylique (Nipasol★) (22).

Les acides hydroxybenzoïques, porteurs d'un groupement méthyle supplémentaire sont connus sous le nom d'acides oxytoluiques. Ils correspondent aux différents crésols: ortho, méta, para. L'acide acétyl ortho crésotinique est un analgésique, succédané de l'aspirine, connu sous le nom de Crésopirine★.

Les acides dioxybenzoïques sont plus rarement utilisés. Il arrive que leurs fonctions phénols soient totalement ou en partie estérifiées. Nous citerons comme exemple l'acide vanillique (Fig. 9).

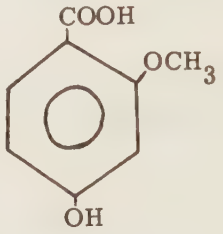


Figure N° 9

l'acide vératrique (Figure 10)

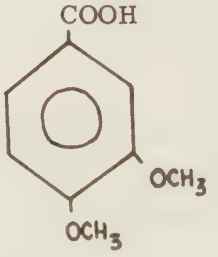


Figure N° 10

Parmi les acides trioxybenzoïques, l'acide gallique (Fig. 11)

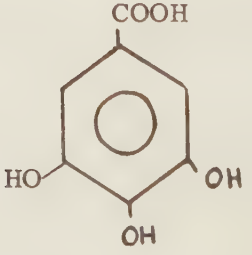


Figure N° 11

a été découvert par SCHEELE en 1875. Il se rencontre à l'état libre dans de nombreuses espèces végétales et peut être obtenu industriellement par synthèse ou par hydrolyse du tanin au cours d'une action fermentaire. Divers sels basiques, notamment le sous gallate de Bismuth ont connus une certaine vogue en thérapeutique.

D - ACIDES HYDRO CINNAMIQUES -

L'un des plus connus parmi ces acides est l'acide caféique ou acide dioxy 3, 4 cinnamique (Fig. 12)

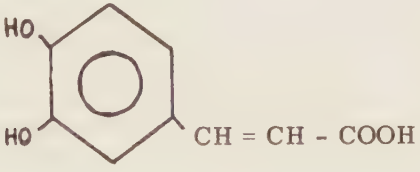


Figure N° 12

On trouvera un certain nombre de renseignements sur cet acide dans les travaux de M. FLAMANG (23, 24, 25). L'acide caféique a d'abord été isolé de la graine de café par PAYEN en 1846. Il a été ensuite rencontré à l'état libre ou combiné dans de nombreuses familles végétales, telles que graminées, apocynacées, solanacées et labiées. La combinaison la plus répandue dans la nature est l'acide chlorogénique (Fig. 4) qui provient d'une estérification entre l'acide caféique et l'acide quinique.

L'acide caféique et l'acide chlorogénique exercent un rôle inhibiteur sur certains enzymes intervenant dans la croissance des plantes. On leur a décrit un effet sur l'indolylacetyl oxydase.

La cynarine retirée de l'artichaut est une substance cholérétique et cholagogue. C'est un diester de l'acide quinique avec deux molécules d'acide caféique. Ce sont

surtout les propriétés inhibitrices-récemment découvertes-de l'acide caféique vis à vis de la DOPA décarboxylase qui sont à l'origine des travaux de FLAMANG. Les synthèses entreprises par cet auteur dans la série des acides cinnamiques avaient initialement pour but la recherche de propriétés antihypertensives.

IV - DEVENIR DES ACIDES PHENOLS ET DES COMPOSES FLAVONIQUES DANS L'ORGANISME

L'intérêt considérable accordé aux composés flavoniques en thérapeutique pour leur effet angioprotecteur est à l'origine de nombreuses recherches biochimiques, destinées à éclairer le devenir de ces substances dans l'organisme. Divers auteurs ont recherché les métabolites des flavones et des anthocyanes dans les urines et les matières fécales des animaux de laboratoire et même de l'homme. Ces recherches concernent essentiellement l'apparition des acides phénols dans les excréta et il faut en rapprocher, à notre avis, les travaux qui ont trait aux modifications des acides phénols dans l'organisme.

Selon GEISSMAN (30) l'administration au rat de rutoside par voie orale est suivie de l'apparition dans l'urine d'acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique et d'acide homovanillique. On retrouve dans les homogénats de rein du même animal une accumulation d'acide protocatéchique.

WILLIAMS (76) étudie le métabolisme des flavonoïdes chez le rat, le lapin, le cobaye et l'homme. Il retrouve d'une façon constante trois métabolites dans l'urine

- L'acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique
- L'acide hydroxy 4, méthoxy 3, phénylacétique ou homovanillique
- L'acide hydroxy 3 phénylacétique.

Cependant lorsque le rutoside est injecté, le dernier de ces acides n'est pas retrouvé dans l'urine.

Quant au devenir ultérieur de ces acides phénols, l'auteur envisage quatre possibilités :

- La sulfoconjugaison
- La glycuroconjugaison
- La méthylation
- La déshydroxylation.

DE EDS, BOOTH et JONES (20, 9), MURRAY ont repris au moyen des techniques chromatographiques bidimensionnelles sur papier, le problème des métabolites urinaires après administration orale de rutoside au lapin. Ils concluent que l'élimination urinaire de l'acide homovanillique est le phénomène le plus important. Celui-ci proviendrait de la méthylation en 3 de l'acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique. De même, pour ces auteurs, la disparition de l'hydroxy en 4 de l'acide précédent donne naissance à l'acide hydroxy 3 phénylacétique.

Une difficulté importante vient du fait que les acides phénols précédents sont normalement présents dans les urines en tant que produits de dégradation des catécholamines. En particulier la dopamine conduit par une série de réactions enzymatiques au même acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique et à ses produits de transformation (10).

KAPETANIDIS (39) recherche le sort des composés flavoniques administrés à l'homme, par voie buccale, à la dose de cinquante milligrammes par kilo. Il n'en trouve pas dans les urines ni dans les matières fécales et nie l'efficacité thérapeutique de ces produits. Il émet aussi l'hypothèse que les flavones pourraient être entièrement métabolisées par l'homme ou fournir des métabolites non phénoliques.

PISANO (56), de son côté, détermine dans l'urine humaine de sujets traités par les flavonoïdes, l'acide hydroxy 4 méthoxy 3 mandélique. VILLAKO (72) dose l'ensemble de ces composés phénoliques excrétés par l'urine.

Pour leur part, MATHIEU et REVOL ont identifié dans l'urine humaine par chromatographie, un certain nombre d'acides phénols et ont fait, à ce propos, une revue d'ensemble de la question (46). Ils rappellent que plus de quarante acides phénols différents ont été identifiés dans l'urine humaine. Le taux global d'élimination est compris entre 50 et 108 mg/litre. L'origine des acides phénols retrouvés dans l'urine est surtout exogène : Elle provient des aliments ayant subi l'action de la flore microbienne. Certains acides phénols ont aussi une origine endogène : Ce sont des catabolites terminaux des amino acides aromatiques et des catécholamines.

A titre d'exemple, les auteurs citent la dégradation du quercétol en acide dihydroxy phénylacétique, lequel évolue ultérieurement vers la production d'acide méta-hydroxy phénylacétique et d'acide homovanillique.

Le destin métabolique des simples phénols a été bien étudié (31). Mais les composés phénoliques plus complexes sont l'objet de transformations analogues. L'acide trans ortho coumarique est éliminé sans modification, sans doute parce que le carbonyle carboxylique est déjà suffisamment acide. Au contraire, l'acide caféique subit dans l'organisme animal une série de transformations conduisant à la formation d'acides férulique, méta coumarique, vanillique, ces acides étant excrétés sous forme libre, ou conjugués avec le glycocolle.

L'acide gallique, administré per os au lapin (74) est excrété pour la plus grande partie inchangé et pour une partie plus faible sous forme de pyrogallol et d'acide méthoxy 4 dihydroxy 3, 5 benzoïque dans l'urine.

SCHELINE (64) a étudié le comportement de différents acides phénols au cours du transit digestif. Une partie de ces études ont été faites in vitro en mettant en contact les acides phénols avec le contenu intestinal du rat. Nous croyons intéressant de rapporter les observations de cet auteur :

Les acides phénols subissent dans le milieu intestinal une décarboxylation partielle qui les transforme en phénols. Les produits méthoxylés sont partiellement déméthylés. Ces transformations sont dues à l'action de la flore intestinale ; elles restent partielles et dépendent des conditions d'expérience. Toutes les déterminations sont compliquées par le fait que les acides phénols sont largement distribués dans le règne végétal et qu'ils se retrouvent dans la nourriture de l'homme et des animaux. Un travail récent de GRIFFITHS (32) met en évidence ces phénomènes de déshydroxylation et surtout de déméthylation à partir de l'acide sinapique.

V - ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES DES ACIDES PHENOLS

Les activités pharmacologiques des acides phénols sont assez variées, à l'image de leur structure. Il est difficile d'établir une parenté étroite entre la structure et l'activité de cette série de composés. Il arrive aussi que les sels et les esters de certains acides phénols, en particulier de l'acide salicylique, présentent des propriétés pharmacologiques fort intéressantes mais assez différentes de celles de l'acide libre. Nous adopterons pour notre exposé une classification pharmacologique.

A - PROPRIETES ANTIBACTERIENNES -

Les propriétés antiseptiques des acides phénols sont fort anciennement connues. Nous rappellerons à ce sujet l'utilisation de l'acide salicylique comme conservateur de denrées alimentaires : tomates, confitures. Il continue à être vendu dans les officines pour cet usage, à l'échelon domestique.

Nous avons mentionné plus haut l'emploi des esters de l'acide para hydroxybenzoïque comme conservateur de préparations pharmaceutiques destinées à l'usage externe.

DELAUNAY (21) mentionne dans sa thèse les propriétés antibactériennes des acides phénols rencontrés dans le vin. Nous reproduisons ci-dessous un tableau de l'auteur établi en appliquant aux acides phénols le test de numération des survivants sur des cultures de Staphylococcus souche Londres (Fig. 13).

Figure N° 13 : Propriétés bactéricides des acides phénols du vin.

Acides testés	Taux des survivants	Concentration
Forte activité :		
Acide paracoumarique	1‰	400 µg/ml
Acide férulique	1‰	400 µg/ml
Acide orthocoumarique	1‰	400 µg/ml
Activité moyenne :		
Acide caféique	1‰	600 µg/ml
Acide isoférulique	1‰	600 µg/ml
Acide gallique	1‰	600 µg/ml
Faible activité :		
Acide protocatéchique	1‰	1200 µg/ml
Acide quinique	1‰	1200 µg/ml
Acide chlorogénique	1‰	1200 µg/ml

Cette méthode permet de distinguer trois sous-groupes d'acides phénols d'activité faible, moyenne ou forte. DELAUNAY a également établi l'existence d'une synergie entre les acides phénols et la néomycine. Cette synergie est surtout le fait de l'acide para coumarique.

Toujours selon le même auteur, l'acide caféique exerce une activité antimicrobienne sur certains germes gram positif : Staphylococcus Pyogenes, Corynebacterium Diphteriae. Cette action serait due à la structure phénolique et serait inhibée in vivo par les protéines.

L'acide caféique inhibe, in vivo, le développement de Brucella Melitensis. L'activité germicide de l'acide caféique est aussi mentionnée par FLAMANG qui précise que l'acide agit surtout sur les bactéries gram négatif et à pH = 7, 0.

De même, on a attribué depuis longtemps à l'acide gallique des propriétés antibactériennes. Celles-ci ont été mises en évidence d'une façon plus précise par HENIS (36) sur des cultures de Clostridrium Cellulosolvens, Bacillus Subtilis, mais cette activité est très inférieure à celle des tanins.

KEITH (40) étudie l'action des acides vanillique, syringiques, gallique et protocatéchique sur les phénomènes de reproduction, dans l'urine humaine, de Escherishia Coli Proteus Vulgaris, Pseudomonas Aeruginosa et Aerobacter Aérogenes. Les acides phénols se montrent efficaces dans l'urine tamponnée à pH 7 - 5, 6 - 4, 5 et 4.

Dans une revue consacrée à l'action bactéricide des acides phénols du vin, MASQUELIER (45) signale que les acides para coumarique, caféique et gallique possèdent un pouvoir bactéricide vis à vis des staphylocoques pathogènes.

Propriétés fongicides :

Selon BACQ, CHEYMOL et Coll. (4), l'introduction sur un cycle aromatique des groupements hydroxyle, carbonyle ou carboxylique fait apparaitre une activité fongistatique. C'est la raison pour laquelle les acides hydroxybenzoïques et leurs esters sont parfois employés comme fongicides en application locale.

Nous citerons à ce propos l'exemple de l'ester borique de l'acide trioxybenzoïque (★)utilisé en pharmacie en solution alcoolique comme antimycosique local.

Propriétés antivirales :

Nous n'avons retrouvé cette mention que pour l'acide caféique qui manifeste une certaine activité sur le virus de l'herpes simplex dans les cultures de tissus embryonnaires de poulet (58). Dans ce système, la thymidine n'arrive pas à inhiber l'action antivirale. Cependant l'acide caféique donné à titre préventif n'empêche pas l'infection due au virus de se prolonger. Il faut que l'acide phénol et le virus soit directement en contact. Dans ce cas là, on obtient une légère baisse de la mortalité, un temps de survie augmenté et une légère consolidation pulmonaire chez la souris infectée avec le virus A de l'influenza. Le traitement thérapeutique avec de l'acide caféique réduit la multiplication virale mais n'empêche pas la formation de l'interféron.

Il en est de même dans le cas du furet à qui l'on a administré une dose non léthale de virus de l'influenza Le traitement n'apporte pas de modification significative à la température.

(★) PHYTEX, N. D., Laboratoires FRAYSSE, Nanterre.

B - PROPRIETES ANTIPYRETIQUES, ANALGESIQUES, ANTIINFLAMMATOIRES, ANTIRHUMATISMALES.

Les propriétés antipyrétiques et analgésiques des acides hydroxybenzoïques sont connues depuis longtemps et mises à profit en thérapeutique humaine. Nous reproduisons ci-dessous le tableau emprunté à BURGER (13) dans lequel apparaissent des composés bien connus. : Acide salicylique, aspirine, acide gentisique (Fig. 14).

L'influence exercée par la position du ou des hydroxyles phénoliques semble déterminante. Les acides ortho hydroxybenzoïques. sont les plus actifs, à l'exception de l'acide β résorcylique.

Le salicylate de sodium, introduit en 1875, présente trois actions principales : antipyrétique, analgésique, antiinflammatoire. Cette dernière propriété l'a fait prescrire depuis longtemps dans le rhumatisme articulaire aigu. Il agirait en modifiant le métabolisme du tissu conjonctif et en particulier la biosynthèse des mucopolysaccharides.

Figure N° 14 : Propriétés antipyrétique, analgésique des acides hydroxybenzoïques .

NOMS	Substituants en position			Anti pyrétique	Anal-gésique	Toléra-nce
	1	2	x			
Acide salicylique	COOH	OH		+ +	+ +	-
Aspirine	COOH	$OCOCH_3$		+ + +	+ + +	+ + +
Acide Résorcylique	COOH	OH	4 : OH	-	-	-
Acide gentisique	COOH	OH	5 : OH	+	+	+
Acide Résorcylique	COOH	OH	6 : OH	+	+	+

WINDER (77) a déterminé comparativement l'effet protecteur de l'aspirine, du gentisate de sodium et de l'acide résorcylique vis à vis de l'érythème déclenché par les U.V. chez le cobaye. L'aspirine possède le pouvoir protecteur le plus important.

L'acide salicylique et son succédané l'acide gentisique stimulerait la sécrétion des corticoïdes par action sur l'hypothalamus (22), mais l'excrétion urinaire de ces hormones est pratiquement inchangée aux doses thérapeutiques comme l'a montré CLARKE (16).

Nous ne pouvons citer les innombrables travaux cliniques consacrés au traitement des rhumatismes par les médicaments salicylés. Les traités classiques insistent sur l'importance de la salicylémie obtenue avec les divers produits, sur la tolérance des médicaments salicylés qui est à l'origine de l'introduction de l'acide gentisique en thérapeutique (4). Ce dernier est un produit d'oxydation de l'acide salicylique et l'organisme humain est capable d'en fabriquer une petite quantité par oxydation du salicylate. Le gentisate de sodium présente plusieurs avantages sur son homologue salicylé : meilleure tolérance gastrique et hépatique, effet moindre sur la crase sanguine, mais aussi effet plus inconstant, avec toutefois un effet antialgique plus marqué (68). Son isomère, l'acide γrésorcylique ou dihydroxy 2,5 benzoïque agit comme l'aspirine dans les formes fébriles de rhumatisme aigu. Cette similitude de comportement serait due selon REID (60) à ses propriétés chélatrices.

De nombreux analogues structuraux des acides hydroxybenzoïques ont été étudiés ces dernières années. On a breveté en particulier des acides phénylacétiques substitués (11) sur le cycle aromatique pour leurs propriétés analgésique , antipyrétique , antiinflammatoire et on les a préconisés dans le traitement de l'arthrite rhumatismale, de la maladie de STILL, de l'ostéoarthrite, du R.A.A. et de divers types d'états inflammatoires ou rhumatismaux non spécifiques.

C - PROPRIETES ANGIOPROTECTRICES -

L'activité angioprotectrice a peu intéressé les pharmacologues. BARABOÏ (5) mentione l'activité du gallate de sodium parmi les substances polyphénoliques possédant des effets vitaminiques P. Le test utilisé par cet auteur consiste en l'étude d'une action de type adrénalique sur les muscles lisses de l'intestin. Dans ce test. le gallate de sodium se comporte comme le rutoside et l'esculétine

GAZAVE (27) a étudié systématiquement l'activité angioprotectrice chez le cobaye de nombreux composés flavoniques. Il cite cependant, parmi les substances efficaces, l'acide para coumarique et l'acide sinapique. Les composés qui montrent une activité vitaminique P réduisent l'acide déhydroascorbique en acide ascorbique.

Ce petit nombre de références est l'une des raisons qui nous ont amené à une étude systématique de l'effet angioprotecteur des acides phénols.

D - PROPRIETES BIOLOGIQUES DIVERSES -

On a décrit à l'acide salicylique de nombreux effets accessoires : action sur les oxydations tissulaires, effet uricosurique, effet cholérétique, anticoagulant et même hypoglycémiant faible et occasionnel.

Nous avons déjà cité plus haut les propriétés chlorétiques et cholagogues de la cynamine retirée de l'artichaut. Nous voudrions surtout rapporter les propriétés antihypertensives de l'acide caféique dont on trouvera une explication dans la thèse de FLAMANG (23). L'acide caféique agirait en tant qu'inhibiteur de la DOPA décarboxylase, en raison de l'analogie structurale qui existe entre l'acide caféique et le substrat de l'enzyme. Ainsi la biosynthèse de la noradrénaline puis de l'adrénaline à partir de la phénylalanine se trouve ralentie. Le passage de la DOPA à la dopamine se trouve freiné, ce qui induit des propriétés antihypertensives (Fig. 15).

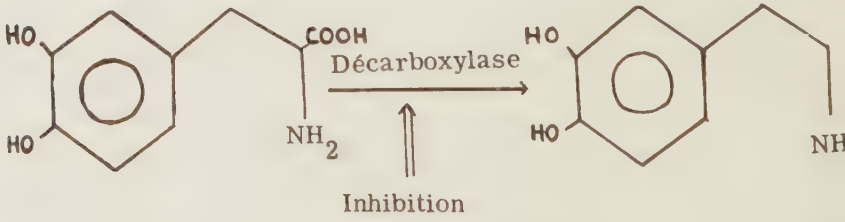


Figure N° 15 - Rôle inhibiteur de l'acide caféique vis à vis de la DOPA décarboxylase.

Cependant cette action n'est pas spécifique; l'acide caféique est aussi inhibiteur de l'hydroxy 5 tryptophane décarboxylase. Cette action pourrait expliquer le fait que les inhibiteurs de la DOPA décarboxylase exercent certains effets dépresseurs centraux se traduisant surtout par de la sédation.

Des dérivés de l'acide hydroxycinnamique ont été récemment brevétés comme médicaments inhibiteurs des l DOPA et hydroxy 5 tryptophane décarboxylases (12). De tels produits sont préconisés comme sédatifs, tranquillisants, hypothermisants, antihypertenseurs, diurétiques désodants et potentialisateurs de l'insuline.

Dans un autre domaine, nous signalerons que des études allergologiques ont mis en évidence le rôle de l'acide chlorogénique en tant qu'allergique principal du grain de café vert. FREEDMAN (26) sensibilise des lapins et des cobayes à l'acide chlorogénique et observe le développement d'antigènes dans leur sérum. Le même auteur a utilisé l'acide chlorogénique comme désensibilisants pour traiter de violentes allergies respiratoires dues à la récolte ou à la manipulation du café vert.

E - PROPRIETES BIOCHIMIQUES -

Nous avons déjà fait allusion à celles-ci dans les chapitres précédents, à propos des propriétés antihypertensives de l'acide caféique. Ces dernières sont la résultante des propriétés inhibitrices de l'acide caféique vis à vis de la DOPA décarboxylase et vis à vis de l'hydroxy 5 tryptophane décarboxylase, comme l'ont montré HARTMAN et ses collaborateurs (33). L'indolylacétyl oxydase est également inhibée par le même acide.

Chez les végétaux, FLAMANG (23) rapporte des études antérieures selon lesquelles l'acide chlorogénique et l'acide caféique exerceraient un pouvoir inhibiteur sur l'enzyme responsable de la croissance des plantes.

Très récemment, RUCKER et PAUPARDIN ont fait état de l'action des divers acides phénols sur la rhizogénèse des tissus de tubercules de topinambours cultivés in vitro (62). Il s'agit notamment des acides caféique , para hydroxybenzoïque, gentisique, vanillique, para coumarique

et férulique. Ces produits renforcent l'action rhizogène exercée par l'acide indolylacétique et l'acide indolylbutyrique.

Enfin PETERS s'est interessé à l'action des acides phénols dans certains aspects du métabolisme bactérien en particulier dans le transport du fer chez Bacillus Subtilis (54).

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES

I - INTRODUCTION

Nos recherches personnelles ont eu pour point de départ des notions thérapeutiques classiques : L'emploi largement répandu des composés flavoniques - rutoside et dérivés hydrosolubles, anthocyanosides - comme angioprotecteurs et facteurs vitaminiques P. Malgré une prise de position défavorable de la F. D. A. aux Etats-Unis, ces produits n'en demeurent pas moins prescrits dans tous les pays du monde pour soulager un certain nombre de troubles qui trouvent leur origine dans une hyperfragilité capillaire ou dans une trop grande perméabilité de ces formations vasculaires. La dégradation logique et généralement admise de ces composés flavoniques dans l'organisme, avec mise en liberté d'acides phénols, fait naître tout naturellement l'hypothèse que les acides phénols, ou tout au moins certains d'entre eux, peuvent être à l'origine de l'action capillarotrope ou, autrement dit de l'effet vitaminique P. Nous avons donc fait porter nos recherches sur la détermination de l'action capillarotrope, par le test classique au bleu trypan, sur une série d'acides phénols provenant du commerce. A ce test d'activité biologique, nous avons associé un test d'activité biochimique : la protection de l'oxydation de l'acide ascorbique.

Considérant enfin qu'il convenait pour entrer dans l'esprit de la pharmacologie moléculaire, d'établir un parallèle, non seulement entre la structure chimique et l'activité biologique et biochimique, mais encore entre cette activité et différents paramètres physiques ou physico-chimiques calculables ou mesurables, nous avons complété notre étude par la détermination des pK des acides phénols ainsi que par la détermination des maxima d'absorption dans l'ultra-violet.

Nous nous sommes également posé le problème d'associations inter ou intramoléculaires éventuelles. C'est pourquoi nous avons pratiqué quelques essais d'orientation dans cette voie.

II - CLASSIFICATION DES ACIDES PHENOLS ETUDIES

De nombreux modes de classification sont possibles, basés soit sur la position de la fonction acide, soit sur la place ou le nombre des hydroxyles, soit encore sur la présence d'autres groupements - tels les méthoxy - au sein de la molécule étudiée.

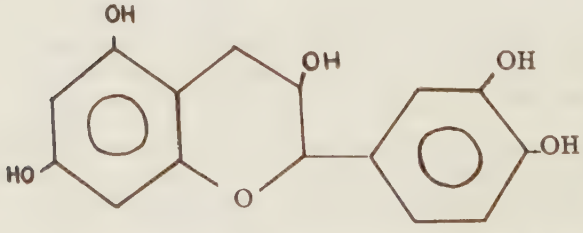
Pour notre part, nous avons pris comme point de départ la chaine possédant le carbonyle carboxylique et nous basons notre classification sur le nombre de carbones (n) séparant le cycle benzénique du groupement carboxylique.

Nous pouvons alors différencier les acides hydroxybenzoïques, hydroxyphénylacétiques, hydroxyphenylpropioniques, hydroxycinnamiques et dans chaque catégorie ainsi formée, nous distinguons les acides monohydroxylés, bihydroxylés, trihydroxylés et méthoxylés .

Enfin, pour chaque acide phénol cité, nous mentionons, outre le nom chimique, les synonymes parfois employés, le poids moléculaire et le point de fusion (34).

A - PRODUITS DE REFERENCE -

1 - Flavone :



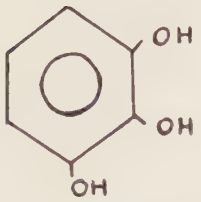
$C_{15}H_{14}O_6$

PM = 290

F = 235 - 237°

I - Epicatéchine Pentahydroxy 3, 3', 4' - 5, 7 Flavone (trans)

2 - Polyphénol :



$C_6H_6O_3$

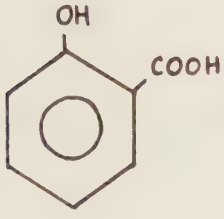
PM = 126

F = 132,5° - 133,5°

II Pyrogallol Trioxy 1,2,3 benzène

B - ACIDES HYDROXY BENZOIQUES ET DERIVES -

1 - Monohydroxylés :

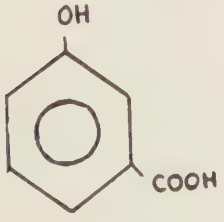


$C_7H_6O_3$

PM = 138

F = 159°

III Acide salicylique : Acide hydroxy 2 benzoïque



$C_7H_6O_3$

PM = 138

F = 200,8°

IV Acide méta hydroxybenzoïque : Acide hydroxy 3 benzoïque

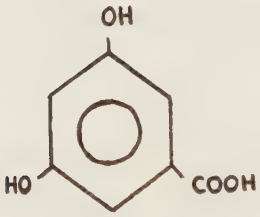
$C_7H_6O_3$

PM = 138

F = 213°-214°

V Acide para hydroxybenzoïque : Acide hydroxy 4 benzoïque

2 - Dihydroxylés :

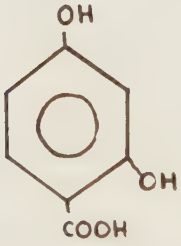


$C_7H_6O_4$

PM = 154

F = 232°

VI Acide α résorcylique : Acide dihydroxy 3, 5, benzoïque

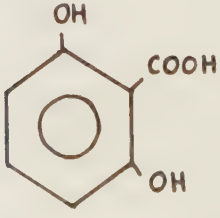


$C_7H_6O_4$

PM = 154

F = 218°

VII Acide β résorcylique : Acide dihydroxy 2, 4 benzoïque

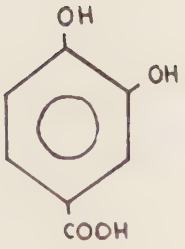


$C_7H_6O_4$

PM = 154

F = 150° à 170° selon mode de chauffage.

VIII Acide γ Résorcylique : Acide dihydroxy 2, 6 benzoïque

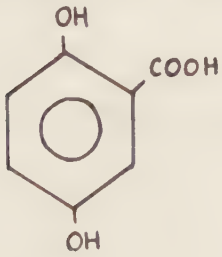


$C_7H_6O_4$

PM = 154

F= 199°

IX Acide protocatéchique : Acide dihydroxy 3, 4 benzoïque



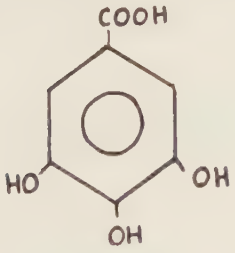
$C_7H_6O_4$

PM = 154

F = 204° - 205°

X Acide gentisique : Acide dihydroxy 2, 5 benzoïque

3 - Trihydroxylés :



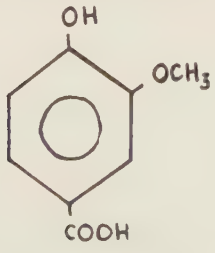
$C_7H_6O_5$

PM = 170

F = 253° (décomposé)

XI Acide gallique : Acide trihydroxy 3, 4, 5 benzoïque

4 - Dérivés méthoxylés :

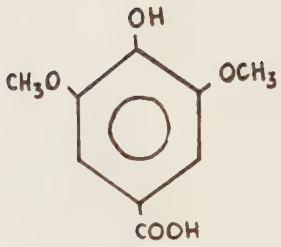


$C_8H_8O_4$

PM = 168

F = 210°

XII Acide vanillique : Acide hydroxy 4 Méthoxy 3 benzoïque



$C_9H_{10}O_4$

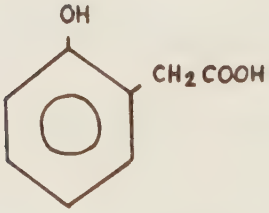
PM = 198

F = 204° - 205°

XIII Acide syringique : acide hydroxy 4 diméthoxy 3, 5 benzoïque.

C - ACIDES HYDROXYPHENYLACETIQUES ET DERIVES

1 - Monohydroxylés :

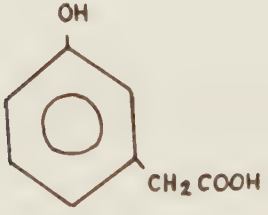


$C_8H_8O_3$

PM = 152

F = 147 à 149°

XIV Acide ortho hydroxyphénylacétique : Acide hydroxy 2 phénylacétique.



$C_8H_8O_3$

PM = 152

F = 129°

XV Acide méta hydroxyphénylacétique : Acide hydroxy 3 phénylacétique.

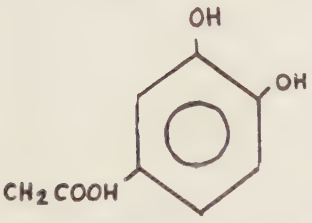
$C_8H_8O_3$

PM = 152

F = 150°

XVI Acide para hydroxyphénylacétique : Acide hydroxy 4 phényl-acétique

2 - Bihydroxylés :

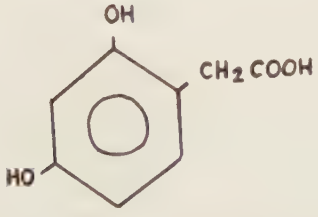


$C_8H_8O_4$

PM = 168

F = 127°

XVII Acide homoprotocatéchique : Acide dihydroxy 3, 4 phényl-acétique.



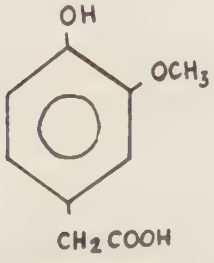
$C_8H_8O_4$

PM = 168

F = 152-154°

XVIII Acide homogentisique: Acide dihydroxy 2, 5 phénylacétique.

3 - Méthoxylés :

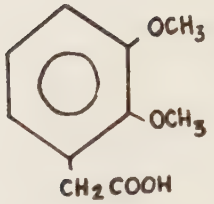


$C_9H_{10}O_4$

PM = 182

F = 139°

XIX Acide homovanillique : Acide hydroxy 4, méthoxy 3 phénylacétique.



$C_{10}H_{12}O_4$

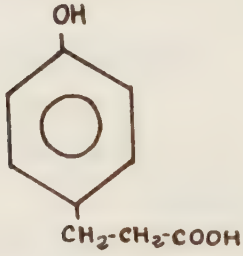
PM = 196

F = 82-83°

XX Acide homovératrique : Acide dimethoxy 2, 3 phénylacétique

D - ACIDES HYDROXYPHENYLPROPIONIQUES -

1 - Monohydroxylé :



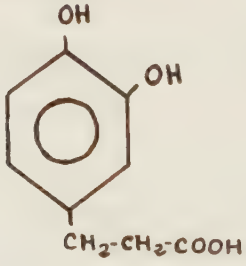
$C_9H_{10}O_3$

PM = 166

F = 129-130°

XXI Acide phlorétique : Acide hydroxy 3 phénylpropionique

2 - Dihydroxylé :



$C_9H_{10}O_4$

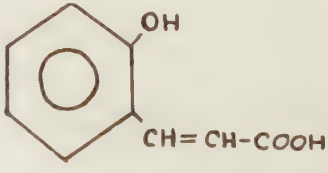
PM = 182

F = 139°

XXII Acide hydrocaféique : Acide dihydroxy 3, 4, phénylpropionique.

E - ACIDES HYDROXYCINNAMIQUES

1 - Monohydroxylés :

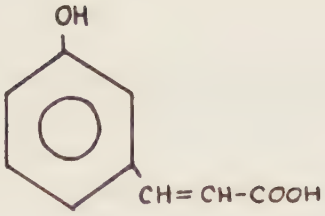


$C_9H_8O_3$

PM = 164

F = 207-208° (décom

XXIII Acide ortho coumarique : Acide hydroxy 2 cinnamique

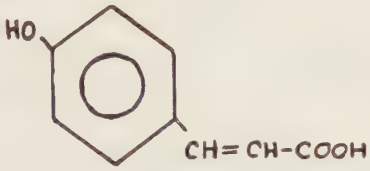


$C_9H_8O_3$

PM : 164

F = 191°

XXIV Acide méta coumarique : Acide trans hydroxy 3 cinnamique



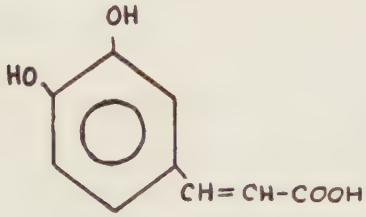
$C_9H_8O_3$

PM = 164

F = 210-213°

XXV Acide para coumarique : Acide hydroxy 4 cinnamique

2 - Dihydroxylé :



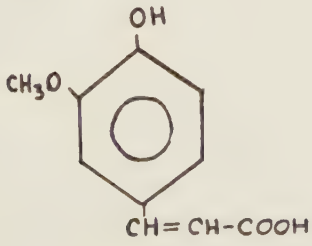
$C_9H_8O_4$

PM = 180

F = 200°

XXVI Acide caféique : Acide dihydroxy 3, 4 cinnamique

3 - Méthoxylé :



$C_{10}H_{10}O_4$

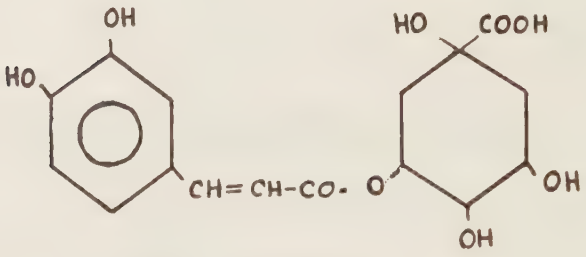
PM = 194

F = 168-169°

XXVII Acide férulique : Acide hydroxy 4 méthoxy 3 cinnamique.

F - DIMERE -

L'intérestérification de l'acide caféique et de l'acide quinique aboutit à la formation d'acide chlorogénique.



$C_{16}H_{18}O_9$
PM = 354
F = 208°

XXVIII : Acide chlorogénique

G - ASSOCIATIONS D'ACIDES PHENOLS -

1 - Mélange A :

XIII : Acide hydroxy 4 diméthoxy 3, 5 benzoïque (Acide syringique) 33, 3 p. 100

XXV : Acide hydroxy 4 cinnamique (Acide para coumarique) 33, 3 p. 100

XIX : Acide hydroxy 4 méthoxy 3 phénylacétique (Acide homovanillique) 33, 3 p. 100

2 - Mélange B :

IX : Acide dihydroxy 3, 4 benzoïque (Acide protocatéchique) 33, 3 p. 100

XVII : Acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique (Acide homoprotocatéchique) 33, 3 p. 100

XX : Acide diméthoxy 2, 3 phénylacétique (Acide homovératique). 33, 3 p. 100

III - DETERMINATION DES pK_A

A - GENERALITES -

La détermination des pK_A - cologarithme décimal de la constante de dissociation-

$$K_A = \frac{(A^-)\ (H^+)}{(A\,H)}$$ que l'on peut également définir par l'équation suivante :

$$pH = \frac{1}{2}\ pK_A - \frac{1}{2} \log C \quad (63)\ (66)$$ nous a semblé utile car elle donne une excellente idée du caractère acide des corps étudiés dans ce travail. Elle s'est avérée d'autant plus nécessaire que la littérature ne donne que peu de renseignements sur les constantes de dissociation des acides phénols.

B - PROTOCOLE -

1 - Principe de la méthode :

Parmi les nombreuses techniques d'évaluation des pK_A nous avons choisi la méthode suivante : Nous déterminons les pK_A des acides phénols, en solution aqueuse, en mesurant l'évolution du pH au cours de leur neutralisation par la soude N/10. Nous traçons les diagrammes qui nous

permettent de déterminer graphiquement le point de demi-neutralisation où, comme on le sait, le pH correspond au pK_A (18).

2 - Protocole expérimental :

a) Matériel :

Nous employons un pH mètre à lecture directe (pH mètre HEITO type PS 18) nous permettant de faire à chaque essai les corrections de température. Les électrodes utilisées sont toujours le couple électrode de verre - électrode au calomel. L'étalonnage du pH mètre est réalisé avec des solutions tampons du type Sörensen. La stabilité des indications de pH données par l'appareil est rapidement atteinte.

Les acides phénols sont toujours en solution extemporanée $\frac{M}{500}$ dans de l'eau distillée bouillie. Pour augmenter l'homogénéité de la solution toutes les expériences seront réalisées avec agitation électro-magnétique.

La soude utilisée, N/10, sera préparée par dissolution de pastilles d'hydroxyde de sodium dans de l'eau bouillie (pour éviter la présence de gaz carbonique) et conservée à l'abri de l'air. La normalité de la solution sera ajustée après titration acidimétrique.

b) Conditions expérimentales générales :

Avant chaque essai, nous réglons le pH mètre à la température du laboratoire grâce à son correcteur de température et nous étalonnons à l'aide d'un tampon de pH = 7,0.

Nous préparons 250 ml de solution $\frac{M}{500}$ de l'acide phénol étudié. Nous plongeons l'électrode du pH mètre dans cette solution qui sera agitée tout au long de l'expérience. Nous amenons également la burette servant au dosage au-dessus du bécher contenant la solution.

- Au temps 0, nous prenons le pH initial du mélange.
- Au temps 0 + 20 secondes, nous ajoutons 0,2 ml de soude N/10
- Au temps 0 + 30 secondes, nous notons le pH ainsi obtenu

- Au temps 0 + 40 secondes, nous ajoutons 0,2 ml de soude N/10
- Au temps 0 + 50 secondes, nous lisons le pH.

L'expérience se poursuit ainsi par additions successives de deux dixièmes de ml de soude N/10 jusqu'à concurrence de quatre millilitres de base. Nous ramenons -- à partir de là - les quantités de soude à 0,1 ml. En effet l'expérience prouve que c'est à ce niveau là qu'est situé le début de l'inflexion de la courbe de neutralisation. Les variations du pH étant alors beaucoup plus importantes, nous diminuons les chances d'erreur en prenant une série de valeurs plus rapprochées.

Ce n'est que lorsque nous aurons dépassé un volume total de 6 ml de soude que nous pourrons à nouveau ajouter celle-ci à raison de 0,2 ml à chaque fois.

L'expérience sera poursuivie ainsi jusqu'à ce que nous ayons employé une quantité de soude de 20 ml.

Signalons également que chaque courbe de titrage a été faite au moins deux fois pour vérifier sa reproductibilité.

L'ensemble des résultats obtenus est porté sur un diagramme portant en abcisse les volumes de soude N/10 et en ordonnée les valeurs du pH.

C'est sur cette courbe que nous déterminerons le point de neutralisation qui nous permettra de trouver graphiquement le point de demi neutralisation correspondant au pK_A.

C - RESULTAT DETAILLE D'UNE EXPERIENCE :

1 - Introduction :

Nous avons choisi à dessein l'acide hydroxy 4 benzoïque (V) car nous avons pu comparer le résultat obtenu par la méthode utilisée et la valeur donnée par HEILBRON (35) qui indique que, en ce qui concerne l'acide para hydroxybenzoïque, $K_A = 2,86.10^{-5}$ donc $pK_A = 4,54$.

Nom de l'acide : Acide hydroxy 4 benzoïque

Essai n° : 2

Titre de la soude : 0,1 N

NaOH en ml	pH	NaOH en ml	pH	NaOH en ml	pH
0	3,81	4,4	5,38	7,6	9,13
0,2	3,88	4,5	5,45	7,8	9,20
0,4	3,97	4,6	5,55	8	9,25
0,6	4,02	4,7	5,65	8,2	9,31
0,8	4,09	4,8	5,80	8,4	9,37
1	4,15	4,9	6,00	8,6	9,41
1,2	4,21	5	6,30	8,8	9,48
1,4	4,26	5,1	6,75	9	9,52
1,6	4,31	5,2	7,25	9,2	9,60
1,8	4,39	5,3	7,70	9,4	9,69
2	4,45	5,4	8,00	9,6	9,75
2,2	4,51	5,5	8,15	9,8	9,81
2,4	4,56	5,6	8,28	10	9,91
2,6	4,62	5,7	8,35	10,2	10,00
2,8	4,70	5,8	8,45	10,4	10,08
3	4,76	5,9	8,55	10,6	10,13
3,2	4,82	6	8,60	10,8	10,20
3,4	4,89	6,2	8,68	11	10,28
3,6	4,98	6,4	8,74	11,2	10,35
3,8	5,04	6,6	8,81	11,4	10,40
4	5,1	6,8	8,88	11,6	10,45
4,1	5,18	7	8,96	11,8	10,50
4,2	5,25	7,2	9,00	12	10,55
4,3	5,30	7,4	9,07	12,2	10,60

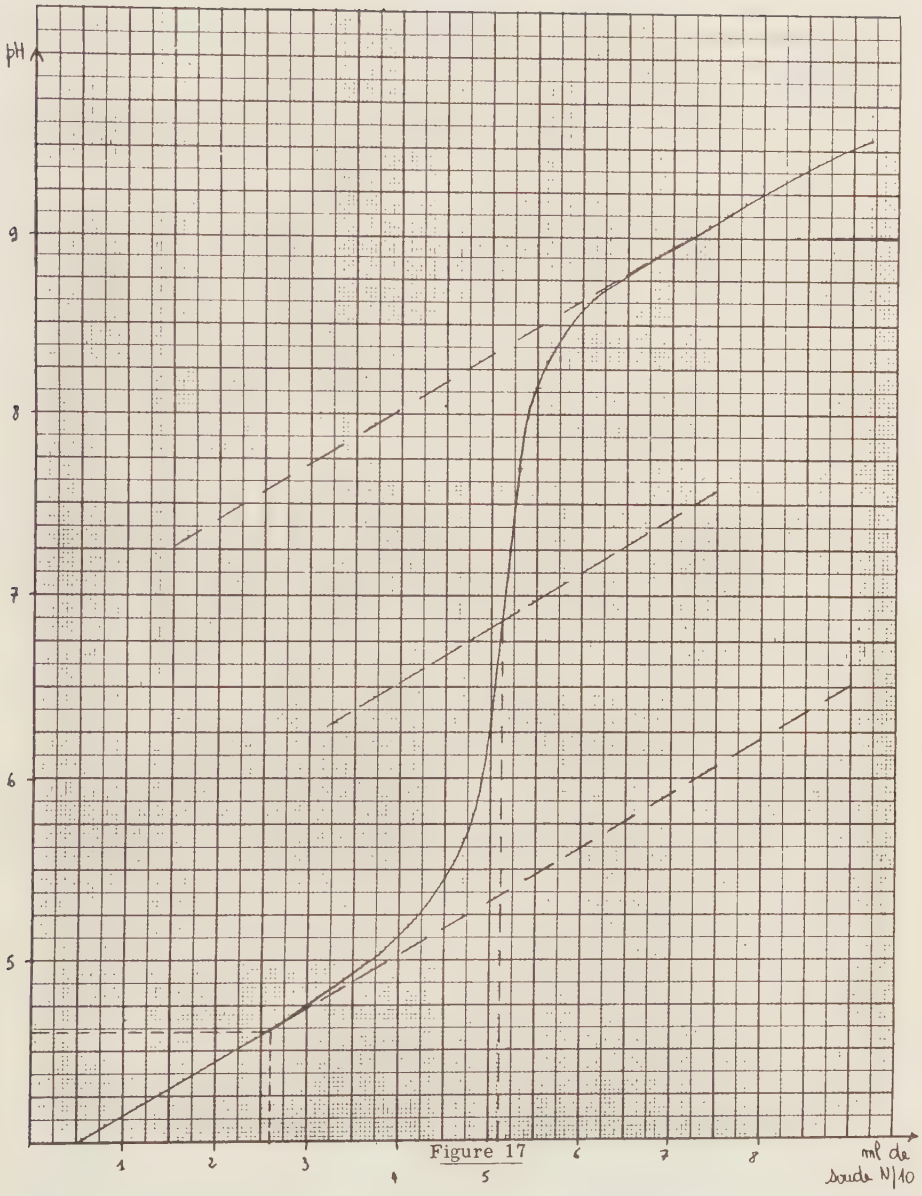


Figure 17
5

2 - Résultats et courbe :

La figure 16 rassemble les résultats obtenus par addition de 12 ml de soude N/10 à une solution aqueuse $\frac{M}{500}$ d'acide hydroxy 4 benzoïque.

Dans la figure 17, nous reproduisons la partie intéressante de la courbe qui nous permet de déterminer pK_A

3 - Comparaison des résultats :

La méthode graphique nous donne un pK_A de 4,60, ce qui n'est pas très éloigné de la valeur trouvée dans la littérature : 4,54.

4 - Remarque :

Nous avons rencontré dans la littérature certains acides phénols dont la constante K_A était connue. En ce qui concerne l'acide salicylique, nous nous sommes référés aux travaux de PELTIER (53) Ces chiffres ont servi de base à nos expériences personnelles.

D - RESULTATS -

Dans la figure 18 sont groupés, sous forme de tableau, les résultats obtenus pour les différents acides phénols testés :

NOM DES ACIDES	pK_A
ACIDES HYDROXYBENZOIQUES	
III A. hydroxy 2 benzoïque	3,08
IV A hydroxy 3 benzoïque	4,52
V A hydroxy 4 benzoïque	4,54
VI A dihydroxy 3,5 benzoïque	4,04
VII A dihydroxy 2,4 benzoïque	3,29
VIII A. dihydroxy 2,6 benzoïque	1,30
IX A. dihydroxy 3,4 benzoïque	4,45
X A. dihydroxy 2,5 benzoïque	2,89
XI A. trihydroxy 3,4,5 benzoïque	4,08
XII A. hydroxy 4 méthoxy 3 benzoïque	4,05
XIII A. hydroxy 4 diméthoxy 3,5 benzoïque	4,52

NOM DES ACIDES	pK_A
ACIDES HYDROXYPHENYLACETIQUES	
XIV A. hydroxy 2 phénylacétique	4, 72
XV A. hydroxy 3 phénylacétique	4, 40
XVI A. hydroxy 4 phénylacétique	4, 55
XVII A. dihydroxy 3, 4 phénylacétique	4, 56
XVIII A. dihydroxy 2, 5 phénylacétique	4, 55
XIX A. hydroxy 4 méthoxy 3 phénylacétique	4, 45
XX A. dimethoxy 2, 3 phénylacétique	4, 11
ACIDES HYDROXYPHENYLPROPIONIQUES	
XXI A. hydroxy 3 phénylpropionique	4, 76
XXII A. dihydroxy 3, 4 phénylpropionique	4, 82
ACIDES HYDROXYCINNAMIQUES	
XXIII A. hydroxy 2 cinnamique	4, 65
XXIV A. hydroxy 3 cinnamique	4, 70
XXV A. hydroxy 4 cinnamique	4, 66
XXVI A. dihydroxy 3, 4 cinnamique	4, 85
XXVII A. hydroxy 4 méthoxy 3 cinnamique	4, 90
DIMERES	
XXVIII A. chlorogénique	4, 15
ASSOCIATIONS	
Mélange A	-
Mélange B	-

Figure N° 18

E - CONCLUSIONS -

La plupart des pK_A mesurés se situent entre 4 et 4,8. Le nombre de groupements hydroxylés, la présence ou l'absence d'une chaine hydrocarbonée entre le cycle aromatique et la carbonyle carboxylique n'influencent que peu le pK_A et il n'est pas possible de rattacher les variations à telle ou telle modification structurale.

Nous remarquerons, cependant, que dans la série des acides hydroxybenzoïques,, les composés hydroxylés en 2 ont tous un pK_A nettement inférieur, en général voisin de 3. Nous pouvons alors dire avec SYKES (67) que le comportement des acides phénols o. substitués est souvent anormal. Leur force est beaucoup plus considérable que prévu et ceci à cause de l'interaction directe des groupements adjacents (Fig. 19) Une liaison hydrogène, par exemple, stabilise l'anion correspondant à l'acide hydroxy 2 benzoïque et permet la délocalisation de la charge, avantage non partagé par les isomères m et p, ni par l'acide ortho méthoxybenzoïque.

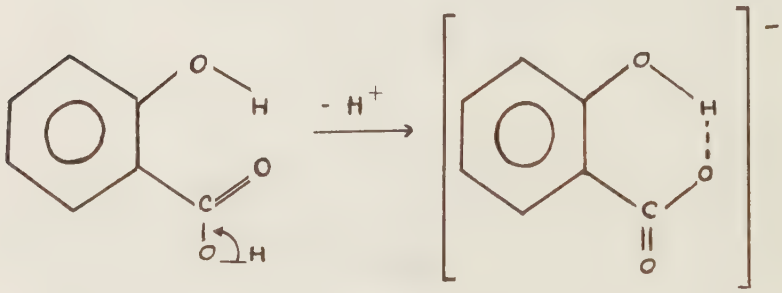


Figure N° 19

Ce dernier effet est même plus marqué lorsque la liaison hydrogène peut se former à partir des deux positions ortho, comme c'est le cas pour l'acide dihydroxy 2-6 benzoïque dont le pK est de 1,30.

IV - ETUDE DE L'ABSORPTION DANS L'UV

A - GENERALITES -

Afin d'essayer de préciser les configurations caractéristiques du squelette carboné et de ses constituants nous avons réalisé, pour certains de nos acides phénols, des spectres d'absorption dans l'ultra-violet.

B - PRINCIPE ET TECHNIQUE -

Les spectres d'absorption, effectués en solution, ont été déterminés sur un spectrophotomètre PERKIN-ELMER de type 137 UV. Les solvants utilisés ont été soit de l'eau, soit un mélange hydroalcoolique. De plus dans un certain nombre de cas, le spectre a été tracé à plusieurs pH entre 3 et 10.

C - RESULTAT DETAILLE D'UN TEST -

Nous reproduisons dans la figure 20, les spectres d'absorption dans l'UV de l'acide dihydroxy 2 -6 benzoïque à une concentration de 5, 58 mg/litre successivement à pH : 3 (Fig. 20 a), pH : 4, 8 (Fig. 20 b), pH : 7 (Fig. 20 c) et pH : 9, 95 (Fig. 20 d).

Dans ce cas là, il n'y a pas de déplacements sensibles des maximum d'absorption.

Cette remarque n'est pas valable pour tous les composés que nous avons étudié, comme le prouve la figure 20.

E - RESULTATS

Nous avons rassemblé dans le tableau ci-joint (fig 21) l'ensemble des résultats obtenus.

Nous ne proposerons pas d'interprétations de ces résultats, ce qui nous éloignerait du but poursuivi dans ce travail et mériterait à lui seul une étude approfondie. Nous noterons simplement la présence constante de deux bandes d'absorption au voisinage de 200 nm et de 250 nm, attribuables, la première à la bande primaire, la deuxième à la bande secondaire du benzène (38).

Fig 21

Nom de l'acide phenol	Concentration (mg p. l.)	pH	λ maximum en nm
IV Acide hydroxy 3 benzoïque	4,85	2,95	207 238 295
	"	4,5	200 225 288
	"	7	198 227 288
	"	10	195 290
V Acide hydroxy 4 benzoïque	4,99	2,9	205 155
	"	4,75	196 249
	"	7,05	196 248
	"	10,35	193 280
VI Acide dihydroxy 3,5 benzoïque	5,1	3	205 248 305
	"	4,85	202 245 295
	"	6,95	201 240 295
	"	10,0	

Nom de l'acide phénol	Concent (mgp. l)	pH	λmaximum en nm				
VII Acide dihydroxy 2, 4 benzoïque	5, 04	3, 05	208		253		290
	"	44, 45	207		248		291
	"	7	206		248		290
	"	9, 95	208		230	270	297
VIII Acide dihydroxy 2, 6 benzoïque	5, 58	3	206		245		305
	"	4, 8	206		245		305
	"	7	206		245		305
	"	9, 95	205		245		305
IX Acide dihydroxy 3, 4 benzoïque	5, 9	3	206	218	258		293
	"	4, 6	205		253		290
	"	6, 9	204		250		288
	"	9, 9					300
X Acide dihydroxy 2, 5 benzoïque	4, 43	3	208		235		325
	"	4, 75	202		235		320
	"	7, 05	200		228		320
	"	10, 0	193				320
XII Acide hydroxy 4 methoxy 3 benzoïque	4, 98	2, 7	205	217		260	292
	"	4, 7	205			254	290
	"	6, 8	205			252	287
	"	7, 5	205			252	285
	"	9, 95		225			297
	"	10, 8		225			300
XIII Acide hydroxy 4, dimethoxy 3, 5 benzoïque	6, 54	3, 0		215		272	
	"	4, 6		213		263	
	"	7		212		261	
	"	10			227		303
XVII Acide dihydroxy 3, 4 Phénylacétique.	4, 97	3	195				290
	"	4, 7	198				280
	"	6, 85	198				280
	"	10			245		
XXVII Acide hydroxy 4 methoxy 3 cinnamique	4, 06	3			235		320
	"	5, 2		213		270	
	"	6, 8		212		270	
	"	9, 8		212			300

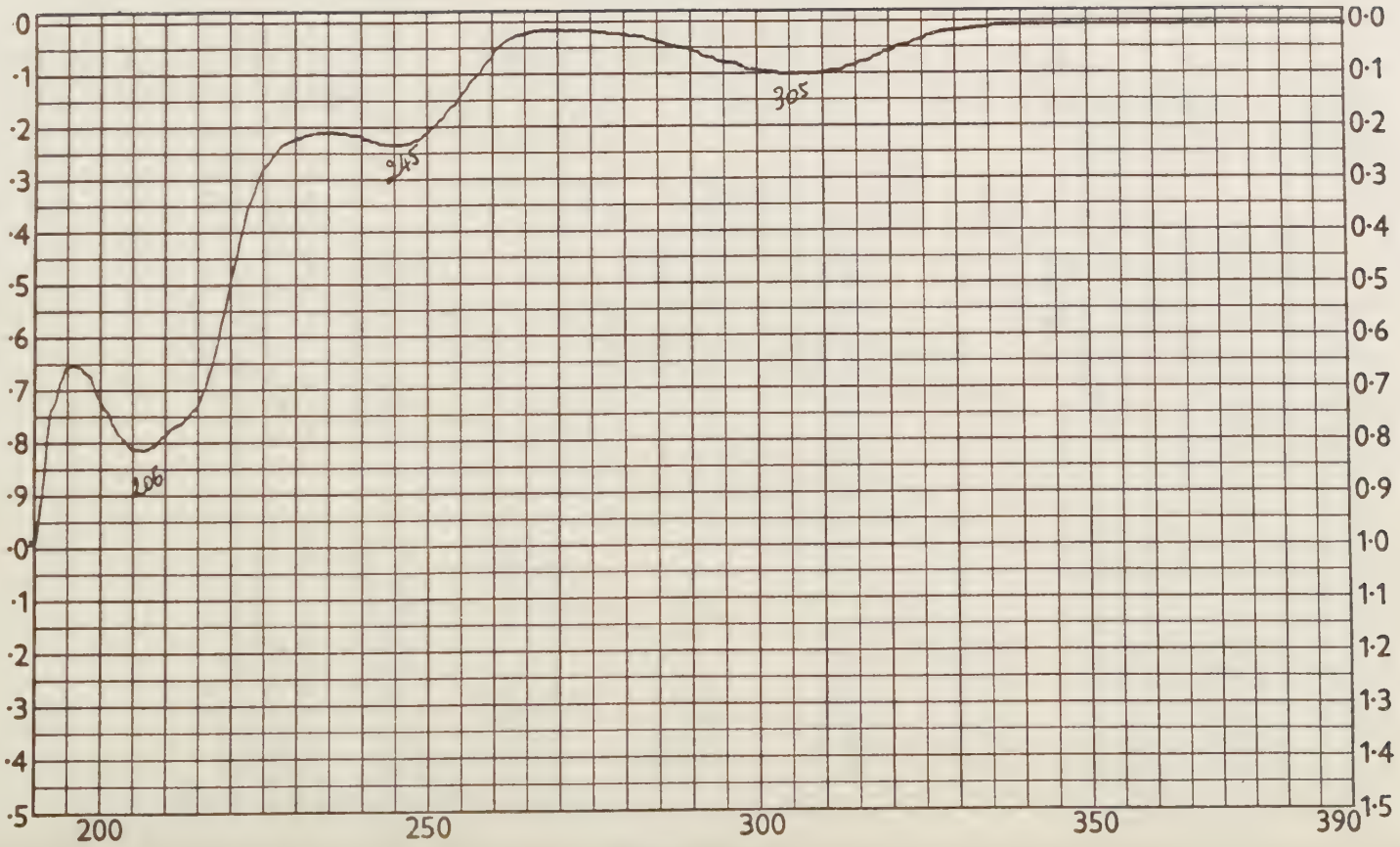

0
·1
·2
·3
·4
·5
·6
·7
·8
·9
·0
·1
·2
·3
·4
·5
0·0
0·1
0·2
0·3
0·4
0·5
0·6
0·7
0·8
0·9
1·0
1·1
1·2
1·3
1·4
1·5
200
250
300
350
390
206
245
305

Figure 20 a

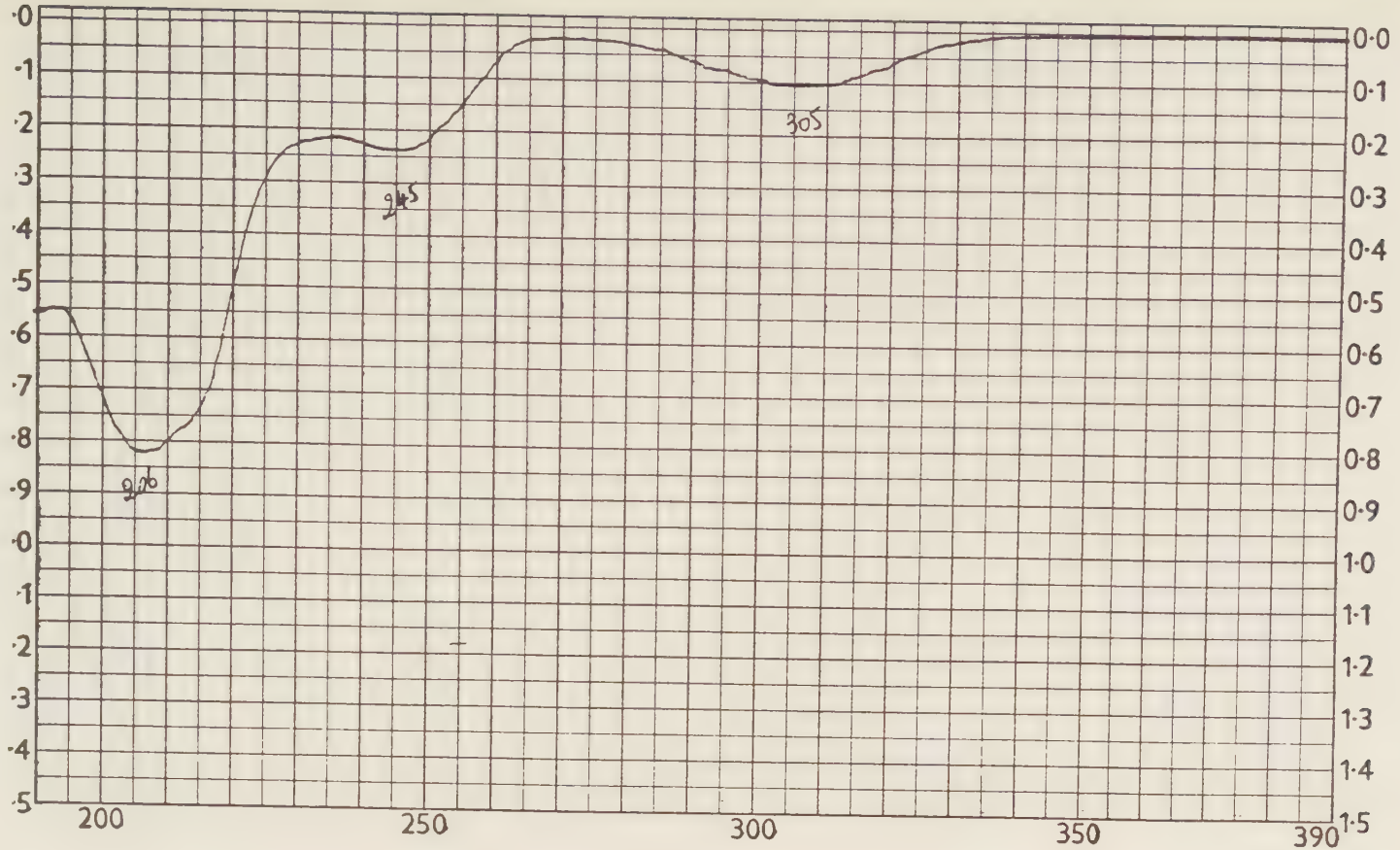

·0
·1
·2
·3
·4
·5
·6
·7
·8
·9
·0
·1
·2
·3
·4
·5
0·0
0·1
0·2
0·3
0·4
0·5
0·6
0·7
0·8
0·9
1·0
1·1
1·2
1·3
1·4
1·5
200
250
300
350
390
305
245
220

Figure 20 b

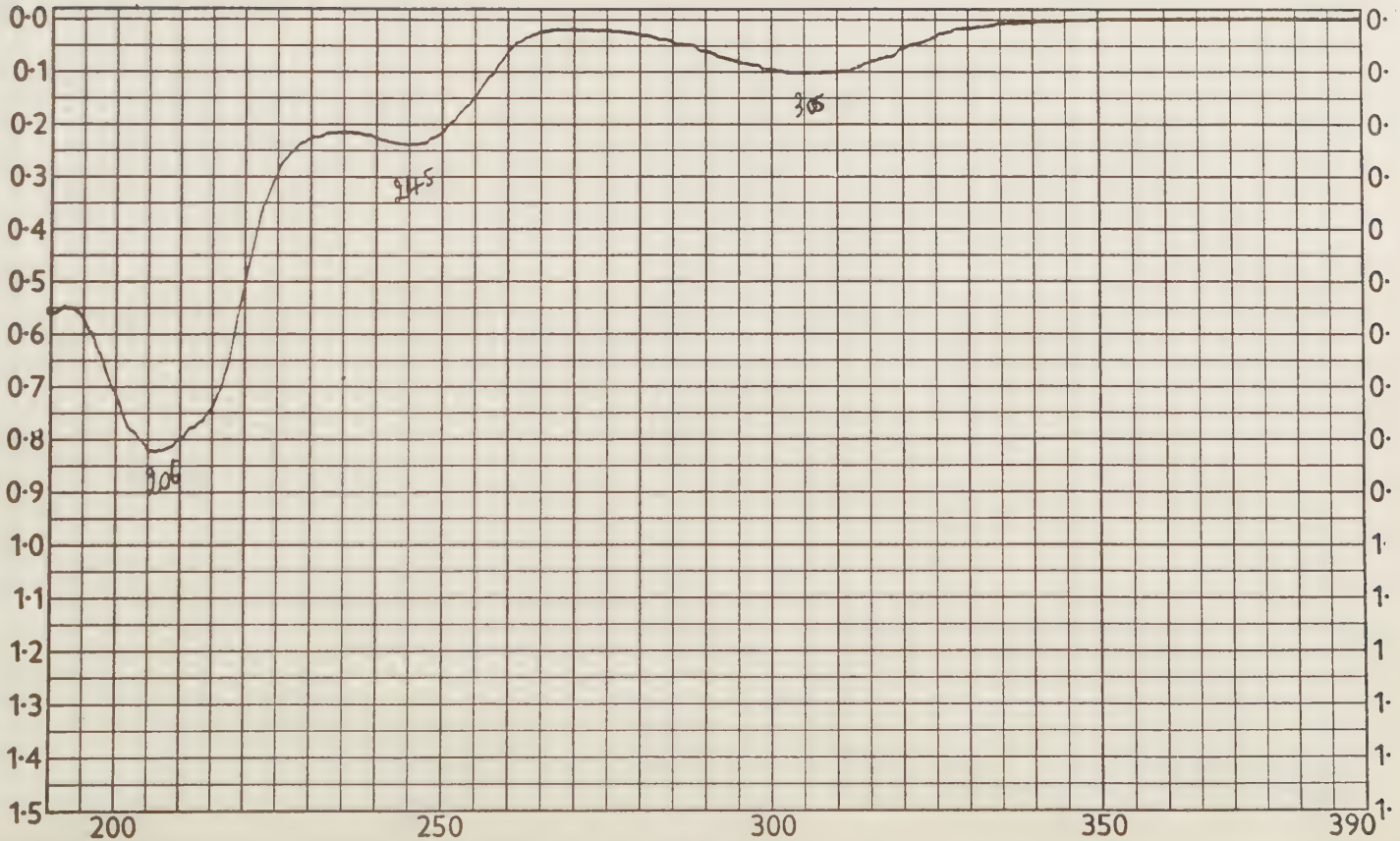

0·0
0·1
0·2
0·3
0·4
0·5
0·6
0·7
0·8
0·9
1·0
1·1
1·2
1·3
1·4
1·5
200
250
300
350
390
0·
0·
0·
0·
0
0·
0·
0·
0·
0·
1·
1·
1
1·
1·
1·
1·
305
245
208

Figure 20 c

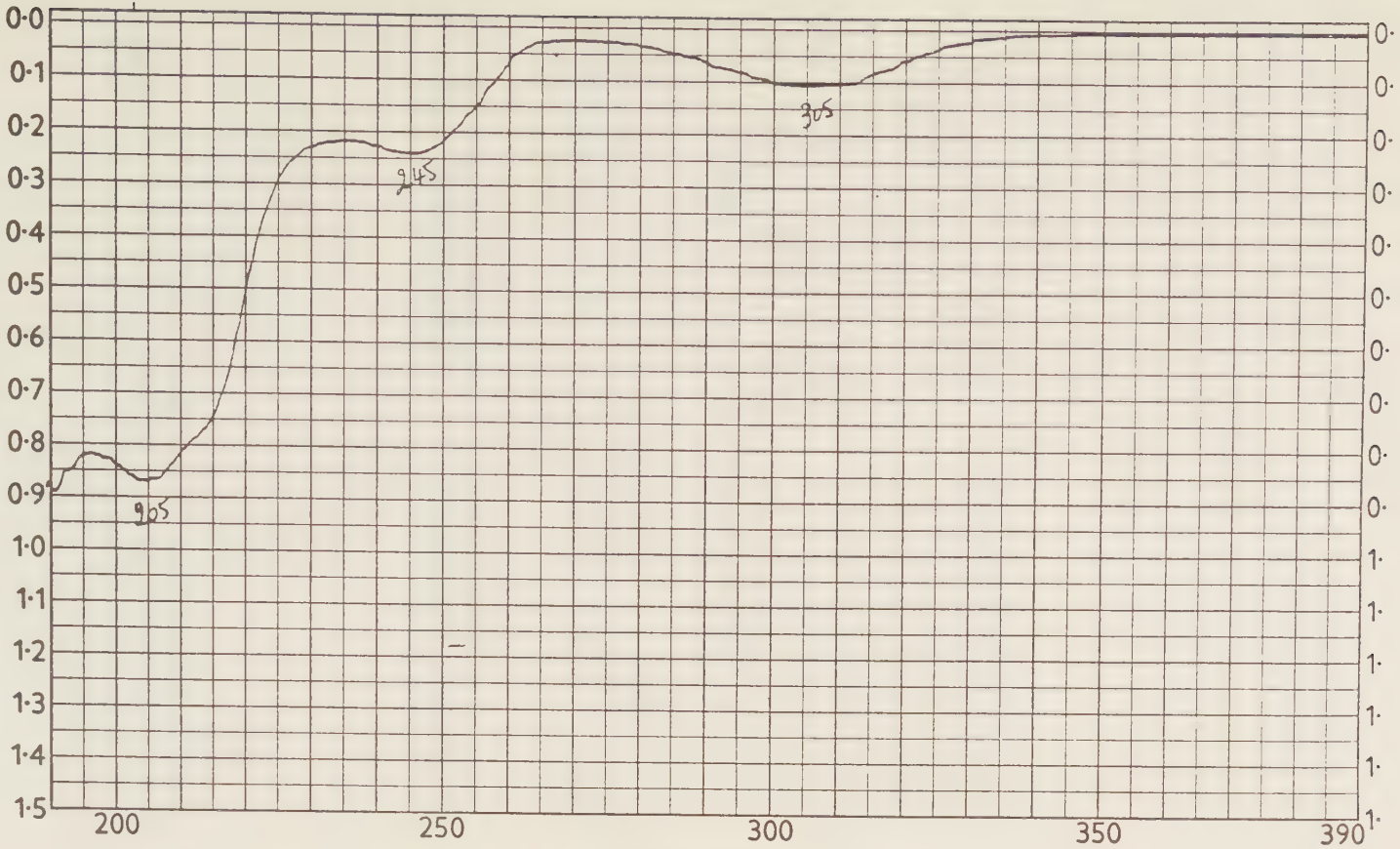

0·0
0·1
0·2
0·3
0·4
0·5
0·6
0·7
0·8
0·9
1·0
1·1
1·2
1·3
1·4
1·5
200
250
300
350
390
905
945
305

Figure 20 d

V - ETUDE DE L'ABSORPTION DANS L'INFRA ROUGE

A - INTRODUCTION

Le but de notre travail était d'obtenir des renseignements sur les chélations éventuelles des acides phénols. On sait que l'étude des liaisons hydrogènes constitue une application importante de la spectroscopie infra-rouge.

Le spectre d'un composé comportant des liaisons H est caractérisé par le déplacement des bandes δ vers les basses fréquences et par une nette augmentation de l'intensité de cette bande. Les associations par liaisons hydrogènes comprenant des groupements hydroxyles donnent lieu aux déplacements les plus importants.

De plus, cette spectroscopie offre une méthode simple pour distinguer les liaisons hydrogènes intermoléculaires des chélations (liaisons H intromoculaires très fortes, type β dicétone).

Cependant, il faut noter que les bandes d'absorption des groupements O - H absolument libres n'apparaissent généralement que lorsqu'on étudie le composé en phase gazeuse ou en solution très diluée dans un solvant non polaire.

B - METHODE

1 - Généralités

Nous avons limité notre étude à la comparaison de deux acides phénols structuralement très proches : l'acide α résorcylique: acide dihydroxy 3-5 benzoïque (VI)

et l'acide γ résorcylique ou acide dihydroxy 2, 6 benzoïque (VIII).

Nous avons réalisé ce travail à l'aide d'un spectromètre Beckman type IR 8. Nous envisagerons successivement deux parties : l'étude en phase solide et en phase liquide.

2 - Expérience en phase solide

Différents essais ont été effectués en pastille de bromure de potassium. Nous avons principalement porté notre attention sur le pic d'absorption correspondant à la fonction acide, pic que l'on rencontre dans les conditions habituelles au voisinage de 1750 cm 1. Mais de façon générale en employant cette technique toutes les associations par liaison hydrogène interviennent et sont reflétées par le spectre.

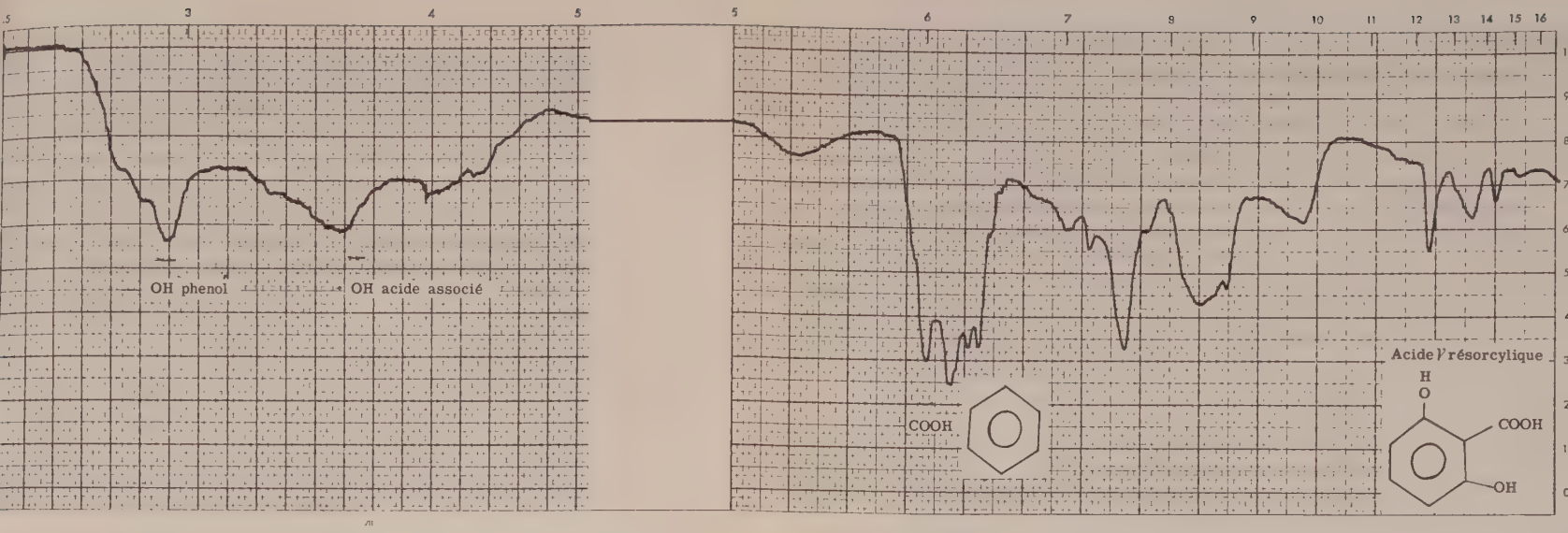
3 - Expérience en phase liquide

Elle s'est avérée beaucoup plus intéressante. Nous avons utilisé comme solvant le tétrahydrofurane (exempt d'impuretés à groupements hydroxyles) Deux possibilités s'offraient à nous : La détection des liaisons intermoléculaires et la recherche d'éventuelles chélations.

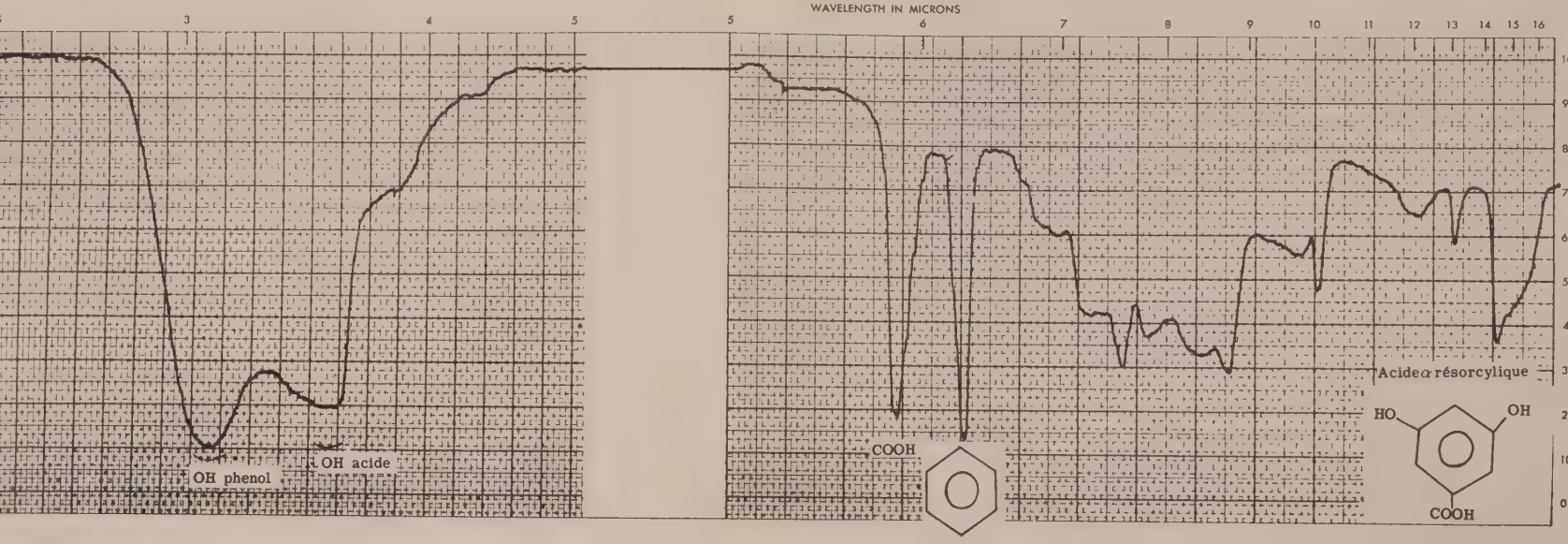
En ce qui concerne le premier type de liaison, nous avons admis avec CANNON (14) et PIMENTEL Mc CLELLAN (55) que la dilution dans un solvant non polaire entraine un affaiblissement de la liaison intermoléculaire, se traduisant par une diminution de l'intensité de l'absorption des groupements hydroxyles liés et par une augmentation simultanée de l'intensité de l'absorption des groupements hydroxyles libres. Cette association intermoléculaire peut exister aussi bien dans le cas des acides orthosubstitués que dans le cas des acides métasubstitués.

Pour la mise en évidence des chélates, nous avons opéré dans le tétrahydrofurane à saturation.

Dans le cas de l'acide α résorcylique (fig n° 22) la vibration correspondante au carbonyle carboxylique apparait à 1710 cm -1 . Ceci nous montre que s'il existe une liaison intermoléculaire, il n'y a , par contre, pas de chélation entre le groupement COOH et l'hydroxyle situé en méta.



WAVELENGTH IN MICRONS



Mais dans le cas de l'acide γ résorcylique la bande carbonyle se trouve à 1665 cm^{-1} (fig n° 23) Il n'y a donc un important déplacement vers les basses fréquences et ceci est caractéristique (8) de la chélation-entre le carbonyle carboxylique et l'hydroxyle en ortho-dont cette molécule est le siège.

C - CONCLUSION

Les cas de l'acide γ résorcylique que nous venons de décrire n'est pas le seul. L'acide solicylique qui absorbe à 1655 cm^{-1} (43) est un autre exemple de ces liaisons intramoléculaires.

Il apparait donc que les acides phénols lorsqu'ils sont orthosubstitués, peuvent donner lieu à la formation, non seulement de liaisons intermoléculaires, mais encore de chélates.

VI - ACTION DES ACIDES PHENOLS SUR L'OXYDATION DE L'ACIDE l-ASCORBIQUE IN VITRO

A - GENERALITES

C'est grace aux travaux de PARROT et Coll. que sont connus les relations existant entre la vitamine C et les substances vitaminiques P. Leurs premières expériences (49 - 50) réalisées in vivo montrent qu'il existe un facteur d'économie de l'acide l-ascorbique, facteur qui, lorsqu'il fait défaut, peut être remplacé par un corps à propriété vitaminique P. Or on sait que l'acide l-ascorbique subit dans l'organisme une oxydation revérsible en acide déhydroascorbique inactif. L'hypothèse suivante peut donc être formulée : les substances vitaminiques P ralentissent l'oxydation de l'acide l-ascorbique ou accélèrent la réduction de l'acide déhydroascorbique, ces deux mécanismes ne s'excluant nullement. La vérification expérimentale a été faite par ces mêmes auteurs (47 - 48).

Nous avons repris le test d'oxydation de la vitamine C, en présence des différents acides phénols, objets de ce travail, afin de voir si l'on pouvait établir un parallèle entre leur action in vivo (test d'Ambrose et de Eds) et leur action in vitro.

B - TECHNIQUE

1 - Principe de la méthode

Nous avons appliqué la technique de dosage de la vitamine C indiquée par PARROT et CANU (51). Cette technique est très proche de celle mentionnée à la Pharmacopée Américaine (69-70) et de celle employée par CLEMETSON et ANDERSEN (17).

Grâce à cette méthode, nous avons étudié l'oxydation de l'acide l-ascorbique dans un mélange tampon de pH = 7,0 additionné de sulfate de cuivre. Des dosages permettent de connaitre la quantité d'acide réduit qui reste présente dans le milieu aux différents temps de l'essai.

En même temps et dans les mêmes conditions, nous suivons l'oxydation de l'acide escorbique dans une solution contenant l'acide phénol à étudier.

Pour comparer les résultats, nous déterminons les temps nécessaires à l'oxydation de la moitié de l'acide ascorbique dans chaque lot et, en calculant le rapport des temps de demi-oxydation, nous obtenons un coefficient d'inhibition.

2 - Protocole expérimental

a) Etalonnage de la solution de 2 - 6 dichlorophénol-indophénol

En milieu acide, la 2 - 6 dichlorophénolindophénol donne une teinte rose en absence d'acide l-ascorbique. Le virage au rose servira donc de témoin indiquant qu'il n'y a plus d'acide l-ascorbique dans le milieu réactionnel.

Nous avons préparé une solution aqueuse de 2 - 6 dichloroindophénol à la concentration de quarante milligrammes par litre. Nous l'étalonnons par rapport à une solution d'acide l-ascorbique dans un mélange tampon phosphate ($PO_4H_2K\ \frac{M}{15}$ et $PO_4HNA_2\ \frac{M}{15}$) de pH = 7,0 dont la neutralité est vérifiée au pH mètre.

Nous prélevons différentes quantités de la solution de vitamine C auxquelles est ajouté un ml d'acide sulfurique à 2 % (solution volume pour volume) et nous versons à la burette la solution de 2 - 6 D. C. P. I. P. jusqu'à obtention d'une teinte rose stable pendant 30 secondes.

Remarque : Il est nécessaire de faire très attention à l'oxydation de la vitamine C au contact de l'air. Pour l'éviter, nous avons toujours travaillé sur des solutions extemporanées.

Les résultats sont consignés dans la figure 25.

Un millilitre de solution de 2 - 6 dichlorophénol indophénol correspond à 20 mg d'acide l-ascorbique.

b) Etude de l'oxydation de l'acide l-ascorbique

Nous obtenons l'oxydation de la vitamine C en solution grace à un barbotage d'air et par adjonction au milieu d'une solution de sulfate cuivrique de telle sorte que sa concentration dans le mélange soit de 3, 5 mcg par litre.

Pour cela nous préparons une solution de vitamine C dans le mélange tampon de pH 7, 0 à une concentration de 0, 5 p. 1000. Nous prèlevons dix huit millilitres de ce soluté et nous y ajoutons deux millilitres de sulfate de cuivre à 35 mcg par litre. C'est ce que nous appellerons le lot A.

Dans les mêmes conditions, nous préparons une deuxième solution d'acide l-ascorbique à laquelle nous ajoutons l'acide phénol à tester à la concentration de 0, 5 p. 1000. Nous prèlevons également 18 ml du mélange obtenu, auquel nous ajoutons deux millilitres de solution de sulfate de cuivre. Ceci formera le lot B.

- Au temps O : nous prèlevons 0, 5 ml du mélange A que nous dosons grâce au réactif de Tillmans, en présence d'un ml d'acide sulfurique à 2 p. 100. Nous obtenons A_0, quantité d'acide l-ascorbique contenue au départ dans le lot A Nous mettons alors en marche la trompe à vide afin d'effectuer un barbotage d'air dans la solution.

- Au temps 0 + 5 minutes, nous prèlevons 0, 5 ml du mélange B que nous dosons à l'aide du 2, 6 déchlorophénolindophénol. Nous notons B_0, correspondant à la quantité de vitamine C réduite présente dans le lot B et nous faisons circuler l'air au sein de la solution B.

Nous prélevons également 0, 5 ml du mélange A où nous évaluons la quantité d'acide ascorbique oxydée en cinq minutes, ce qui nous donne A_1.

- Au temps 0 + 15 minutes, 0 + 20 minutes
- 0 + 25 " 0 + 30 "
- 0 + 35 " 0 + 40 "
- 0 + 45 " 0 + 50 "
- 0 + 55 " 0 + 60 "
0 + 70 "

- et 0 + 80 minutes, nous répétons la même analyse en prélevant à tour de rôle, de 5 minutes en 5 minutes, une partie aliquote des solutions A ou B.

Nous obtenons ainsi successivement les quantités A_2, A_3, A_4, A_5, A_6, de vitamine C réduite présente dans le lot A quinze minutes, vingt cinq minutes, trente cinq minutes, quarante cinq minutes et cinquante cinq minutes après la mise en marche de l'expérience et les quantités B_2, B_3, B_4, B_5, B_6, B_7 et B_8, de vitamine C réduite présente dans le lot B respectivement quinze minutes, vingt cinq minutes, trente cinq minutes, quarante cinq minutes, cinquante cinq minutes, soixante cinq minutes, soixante quinze minutes après la mise en route de l'oxydation du lot B.

Le décalage de cinq minutes entre l'oxydation des deux lots n'a pas d'autre but que celui de nous permettre de mener de front, donc dans les mêmes conditions, ces deux expériences parallèles.

L'ensemble des résultats obtenus, exprimés en mcg/litre, nous permet de construire la courbe d'oxydation de la vitamine C, en présence ou non d'acide phénol et ce en fonction du temps.

C - RESULTAT DETAILLE D'UNE EXPERIENCE

Nous donnons ci dessous les résultats d'ensemble obtenus lors de l'étude de l'acide hydrocaféique. Nous avons choisi cet acide phénol à dessein, car il semble particulièrement actif comme facteur de ralentissement de l'oxydation de l'acide l-ascorbique in vitro.

1 - Détail d'une expérience

Nous avons procédé exactement comme il est indiqué ci dessus. Nous reproduisons dans un tableau les différents résultats (fig 24)

Temps en minutes	Lot A : Acide l-ascorbique			Lot B: Acide l-ascorbique en présence d'acide hydrocaféique		
	Quantité de D.C.P.I.P. en ml	A	Quantité d'acide l-ascorbique en mcg p. ml	Quantité de D.C.P.I.P. en ml	B	Quantité d'acide l-ascorbique en mcg p. ml
0	12	A_0	480	13	B_0	520
5	10,2	A_1	408	12,1	B_1	484
15	6,4	A_2	256	10,5	B_2	412
25	4,1	A_3	164	8,6	B_3	344
35	3	A_4	120	6,9	B_4	276
45	2,2	A_5	88	5,3	B_5	212
55	1,5	A_6	60	4,2	B_6	168
65				3,3	B_7	132
75				2,7	B_8	108

Figure : 24

A l'aide de ces résultats, nous pouvons tracer les courbes d'oxydation de l'acide l-ascorbique en présence d'ion cuivrique. Nous prendrons comme abscisse le temps exprimé en minutes et comme ordonnée la concentration d'acide l-ascorbique en mcg. p. ml. (fig. 26).

Nous déterminons alors les temps nécessaires à l'oxydation de la moitié de la vitamine C dans les deux cas, soit T_A dans le cas du lot A et T_B dans le cas du lot B.

Nous pouvons alors définir un coefficient d'inhibition, caractéristique de l'acide hydrocaféique et égal au rapport $\frac{T_B}{T_A}$

Dans ce cas $T_A = 17$

$T_B = 37,5$

$R = \frac{37,5}{17} = 2,20$

Quantité de solution de vitamine C en ml	Quantité d'acide l ascorbique en mcg	Quantité de solution de D. C. P. I. P.
0, 1	50	2, 5
0, 1	50	2, 5
0, 2	100	5
0, 2	100	4, 9
0, 3	150	7, 5
0, 3	150	7, 5
0, 4	200	10, 1
0, 4	200	10
0, 5	250	12, 5
0, 5	250	12, 5

fig n° 25

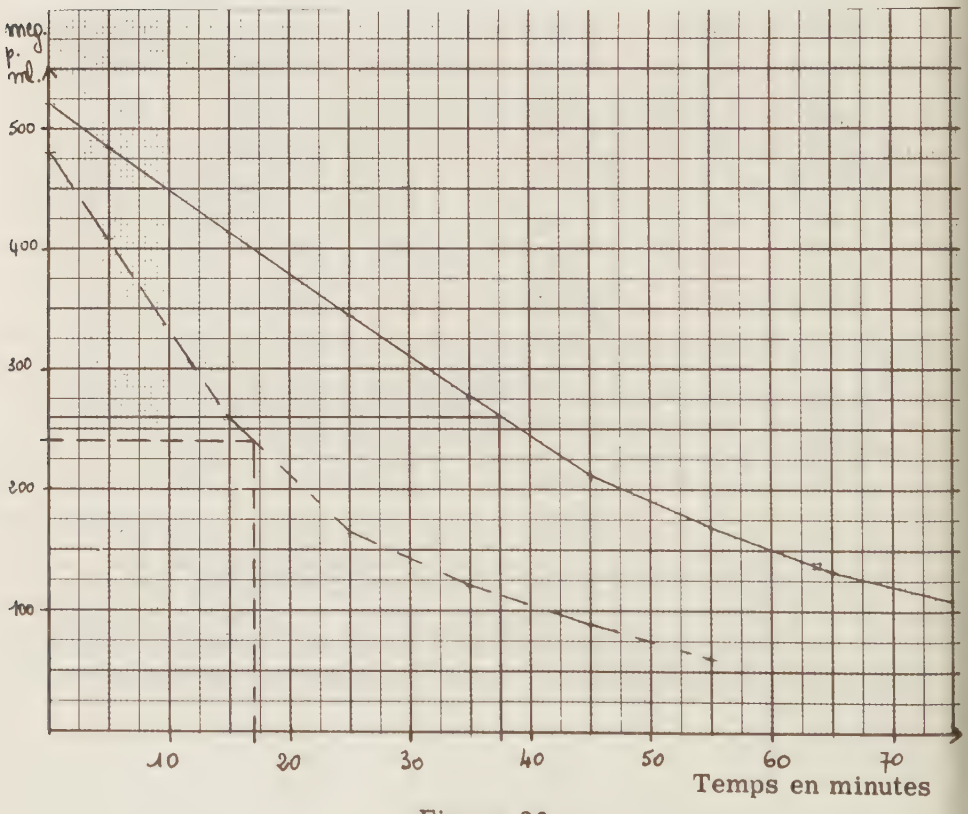


Figure 26

2 - Résultat

Pour chaque acide nous avons renouvelé plusieurs fois le même test. Et nous avons établi la moyenne entre les rapports ainsi obtenus.

Dans le cas de l'acide hydrocaféique nous avons obtenu 2,19 - 2,20 - 2,22 et 2,21, ce qui nous donne comme coefficient d'inhibition :

2,205

L'examen de ce résultat nous permet de tirer deux conclusions :

1)- La technique utilisée dans le cas des flavonoïdes par PARROT et CANU (51) peut être appliquée à l'étude des acides phénols en tant que protecteurs de l'oxydation de l'acide l - ascorbique.

2)- L'acide hydrocaféique possède un haut pouvoir protecteur vis à vis de l'oxydation de la vitamine C puisque le temps de demi-oxydation de cette substance est plus que doublé en sa présence.

D - RESULTATS

La figure 27 rassemble les résultats obtenus pour les acides phénols testés. Nous pouvons résumer ainsi nos observations sur l'ensemble de ces valeurs :

Le pouvoir protecteur vis à vis de l'oxydation de l'acide l-ascorbique est une propriété générale des acides phénols. Mais les relations avec la structure chimique sont loin d'être évidentes. Nous pouvons cependant noter un effet protecteur constament elevé chez les composés les plus hydroxylés de chaque série. C'est le cas des composés II, XI, XVIII, XXII, XXVI.

ACIDE PHENOL	R
Produits de référence	
I Pentahydroxy 3, 3', 4' - 5, 7 Flavone	1, 18
II Trioxy 1, 2, 3, Benzène	2, 55
Acides hydroxybenzoïques	
III° Acide hydroxy 2 benzoïque	1, 95
IV Acide hydroxy 3 benzoïque	2, 085
V Acide hydroxy 4 benzoïque	2, 1
VI Acide dihydroxy 3, 5 benzoïque	1, 66
VII Acide dihydroxy 2, 4 benzoïque	1, 7
VIII Acide dihydroxy 2, 6 benzoïque	1, 5
IX Acide dihydroxy 3, 4 benzoïque	2, 05
X Acide dihydroxy 2, 5 benzoïque	1, 91
XI - Acide trihydroxy 3, 4, 5 benzoïque	2, 405
XII Acide hydroxy 4, méthoxy 3 benzoïque	1, 645
XIII Acide hydroxy 4, diméthoxy 3, 5 benzoïque	1, 435
Acides hydroxyphenylacetiques	
XIV Acide hydroxy 2 phénylacétique	2, 20
XI Acide hydroxy 3 phénylacétique	2, 635
XVI Acide hydroxy 4 phénylacétique	1, 765
XVII Acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique	1, 45
XVIII Acide dihydroxy 2, 5 phénylacétique	2, 58
XIX Acide hydroxy 4 méthoxy 3 phénylacétique	1, 27
XX Acide diméthoxy 2, 3 phénylacétique	1, 26
Acides hydroxyphénylpropioniques	
XXI Acide hydroxy 3 phénylpropionique	1, 37
XXII Acide dihydroxy 3, 4 phénylpropionique	2, 205
Acides hydroxycinnamiques	
XXIII Acide hydroxy 2 cinnamique	1, 78
XXIV Acide hydroxy 3 cinnamique	2
XXV Acide hydroxy 4 cinnamique	2, 22
XXVI Acide dihydroxy 3, 4 cinnamique	2, 58
XXVII Acide hydroxy 4 méthoxy 3 cinnamique	1, 52
Dimère	
XXVIII Acide chlorogénique	2, 1
Mélange	
XXIX Mélange A	1, 1
XXX Mélange B	1, 30

fig n° 27

VII - ACTIVITE DES ACIDES PHENOLS SUR LA PERMEABILITE CAPILLAIRE: ROLE ANGIOPROTECTEUR

A - GENERALITES

Dans le but d'apprécier un effet angioprotecteur et vitaminique P, nous avons recherché l'action des différents acides phénols sur la perméabilité capillaire chez le lapin, en faisant appel au test au bleu trypan, selon la technique de POURRAT, BASTIDE et Coll. (59) d'après la méthode d'AMBROSE et de EDS (1, 2).

B - TECHNIQUE

1 - Principe de la méthode

Ce test permet la mise en évidence d'un renforcement de la paroi des capillaires sanguins cutanés chez le lapin albinos préalablement soumis à un régime capillarofragilisant.

Après administration par voie veineuse d'une solution de bleu trypan, l'application sur la peau de la région abdominale d'une substance irritante favorise l'apparition du colorant par acroissement de la perméabilité capillaire. L'administration de facteur vitaminique P retarde l'apparition des taches de colorant.

2 - Protocole expérimental

a) Choix des animaux

Nous avons utilisé pour chaque test six lapins,

albinos pesant de 2 kilogrammes à 4, 5 kilogrammes. Ils sont privés de verdure pendant deux semaines avant l'essai et reçoivent pour toute nourriture du son mouillé, de l'avoine et de l'eau.

La veille de l'expérience, les lapins carencés sont soumis à une soigneuse épilation à l'aide de monosulfure de sodium à 20 %, de l'apophyse xyphoïde à la région inguinale. Cette surface est divisée en vingt carrés égaux destinés à recevoir l'application de l'agent irritant.

b) Choix du matériel

Le colorant servant d'indicateur coloré est une solution à 1 % de bleu trypan purifié. Il sera administré au lapin par voie intraveineuse, dans la veine marginale de l'oreille à raison de un millilitre de solution à 1 % par kilo de poids corporel.

L'irritation est produite par application sur la peau épilée, aux emplacements prévus à cet effet, durant trente secondes, de deux tampons de coton de un centimètre carré, imbibé de chloroforme.

Cette irritation favorise la diffusion du colorant, hors des capillaires, vers les liquides interstitiels. Il en résulte l'apparition d'une tache bleue à l'endroit ainsi irrité.

Le temps écoulé entre l'application du coton imbibé de chloroforme et l'apparition de la tache bleue, est mesuré à l'aide d'un chronomètre. Ce temps est accru après administration de facteur vitaminique P.

3 - Conditions expérimentales générales

Les animaux sont répartis en deux lots de trois animaux. Sur chaque animal du premier lot seront administrés successivement un facteur vitaminique P de référence et l'acide phénol à tester. Cet ordre sera inversé lors de l'administration aux animaux du second lot. (Par convention, nous avons pris la lettre E pour le produit de référence et la lettre P pour le produit à tester).

Le déroulement des opérations est le suivant :

- Au temps zéro, nous administrations par voie endoveineuse un millilitre par kilo de solution à 1 % de bleu trypan.

- Au temps zéro + 10 minutes, nous appliquons deux tampons de coton imbibé de chloroforme : tampons témoins T_1 et T_2 . Les temps d'apparition t_1 et t_2 des taches bleues sont notées et nous déterminons le temps moyen

$$t = \frac{t_1 + t_2}{2}$$

- Au temps zéro + 20 minutes, nous administrons per os, le facteur vitaminique P de référence, par exemple une suspension d'anthocyanosides de myrtille à 2 % dans la gomme adragante à 1 %.

- Au temps zéro + 40 minutes, nous appliquons deux tampons de coton imbibé de chloroforme E_1 et E_2 durant trente secondes et nous notons les temps d'apparition des taches bleues e_1 et e_2.

- Au temps zéro + 50 minutes, nous procédons de la même façon que précedemment et nous notons les temps e_3 et e_4.

- Au temps zéro + 60 minutes, nous renouvellons le même processus, ce qui nous permet d'obtenir les temps e_5 et e_6.

- Au temps zéro + 70 minutes, nous répétons le même test et nous notons les temps e_7 et e_8.

L'animal est alors mis au repos et en liberté pendant deux heures et l'expérience est reprise comme il suit.

- Au temps y, nous injectons à nouveau par voie intraveineuse un demi millilitre de bleu trypan à 1 %.

- Au temps y + 10 minutes, nous appliquons deux tampons de coton imbibé de chloroforme durant trente secondes, puis nous notons les temps d'appartion t'_1 et t'_2 des taches bleues.

- Au temps y + 20 minutes, nous administrons, per os, l'acide phénol à tester à la dose correspondant à celle du produit de référence et en même solution que lui.

- Au temps y + 40 minutes, nous appliquons deux tampons de coton imbibé de chloroforme P_1 et P_2 durant trente secondes puis nous notons les temps d'apparition P_1 et P_2 des taches bleues.

- Au temps y + 50 minutes, y + 60 minutes, y + 70 minutes les mêmes opérations sont recommencées et nous notons successivement les temps p_3 et p_4, p_5 et p_6, p_7 et p_8.

Les résultats sont consignés dans un tableau d'ensemble.

Pour chaque application des tampons imbibés de chloroforme, les temps

$$\frac{e_1 + e_2}{2} \qquad \frac{e_3 + e_4}{2} \qquad \frac{e_5 + e_6}{2} \qquad \frac{e_7 + e_8}{2}$$

sont comparés à $\frac{t_1 + t_2}{2}$ Nous pouvons alors calculer les pourcentages d'allongement du temps d'apparition des taches bleues.

Nous procédons de la même manière avec

$$\frac{p_1 + p_2}{2} \qquad \frac{p_3 + p_4}{2} \qquad \frac{p_5 + p_6}{2} \qquad \frac{p_7 + p_8}{2}$$

par rapport à $\frac{t'_1 + t'_2}{2}$

C - RESULTAT DETAILLE D'UNE EXPERIENCE

Nous avons reproduit ci dessous l'ensemble des résultats obtenus pour un acide phénol donné : l'acide vanillique.

L'expérience s'est déroulée en deux temps :

Les lapins R_1, R_2, R_3 ont reçu le produit de référence (anthocyanosides extraits de Vaccinium Myrtillus) à la dose de quarante milligrammes par kilo, puis le produit à tester à la même dose de quarante milligrammes par kilogramme.

Les lapins C_1, C_2, C_3 ont reçu les mêmes substances mais dans l'ordre inverse.

LAPIN R_1 Poids : 4, 052 kilogrammes					
Temps	Heure	Expérimentation			
Temps 0	9h45	Injection Intraveineuse de Bleu trypan à 1 %			
Temps 0 + 10 min	9h55	Pose de deux tampons T_1 et T_2 imbibés de chloroforme Apparition de t_1 : 10 h 02 : 7' Apparition de t_2 : 10 h 02 : 7' } t = 7 min.			
Temps 0 + 20 min	10h05	Per os : 40 mg/kg d'une solution d'anthocyanoside à 2 %			
Temps 0 + 40 min	10h25	Temps d'apparition du bleu : e	$\frac{e_1+e_2}{2}$	$\frac{e_1+e_2}{2}$ - t	%
		E_1 10h34 e_1 = 9' E_2 10h36 e_2 = 11'	$\frac{9+11}{2}$=10'	10 - 7=3'	$\frac{3x100}{7}$ =43%
Temps 0 + 50 min	10h35	E_3 10h45 e_3 = 10' E_4 10h51 e_4 = 10'	$\frac{10+16}{2}$=13'	13 - 7=6'	$\frac{6x100}{7}$ =85, 5%
Temps 0 + 60 min	10h45	E_5 11h00 e_5 = 15' E_6 11h00 e_6 = 15'	$\frac{15+15}{2}$=15'	15 - 7=8'	$\frac{8x100}{7}$ =111%
Temps 0 + 70 min	10h55	E_7 11h09 e_7 = 14' E_8 11h09 e_8 = 14'	$\frac{14+14}{2}$=14'	14 - 7=7'	$\frac{7x100}{100}$ =100%

Le lapin est alors laissé au repos puis l'expérience est reprise deux heures après en administrant cette fois l'acide vanillique (fig n° 28').

Figure N° 28

LAPIN R_1		Poids : 4,052 kilogrammes				
Temps	Heure	Expérimentation				
Temps y	13h50	Injection IV de 0,5 ml de Bleu trypan à 1 %				
Temps y + 10 min	14h	Pose de deux tampons T'_1 et T'_2 imbibés de chloroforme 30' Apparition t'_1 : 14 h 07 : 7' Apparition t'_2 : 14 h 07 : 7' } t' = 7 min				
Temps y + 20 min	14h10	Per os : 40 mg/kg d'une solution d'acide vanillique à 2 %				
Temps y + 40 min	14h30	Temps d'apparition du bleu : p		$\frac{p_1+p_2}{2}$	$\frac{p_1+p_2}{2}$ - t'	%
		P_1 14h39 P_2 14h41	p_1 = 9' p_2 = 11'	$\frac{9+11}{2}$ = 10'	10-7=3'	$\frac{3x100}{7}$ =43%
Temps y + 50 min	14h40	P_3 14h50 P_4 14h52	p_3 = 10' p_4 = 12'	$\frac{10+12}{2}$ = 11'	11-7=4'	$\frac{4x100}{7}$ =57%
Temps y + 60 min	14h50	P_5 15h04 P_6 15h04	p_5 = 14' p_6 = 14'	$\frac{14+14}{2}$ = 14'	14-7=7'	$\frac{7x100}{7}$ =100%
Temps y + 70 min	15h00	P_7 15h12 P_8 15h14	p_7 = 12' p_8 = 14'	$\frac{12+14}{2}$ = 13'	13-7=6'	$\frac{6x100}{7}$ =85,5%

2 - Résultats d'ensemble obtenus avec l'acide vanillique

Figure N° 28'

1 - Schéma de l'expérience et résultat pour un lapin donné

Nous reproduisons ici l'ensemble des résultats obtenus pour le lapin R_1 (fig n° 28) qui a d'abord reçu l'anthocyanoside de référence puis l'acide vanillique.

Dans le tableau ci contre (fig n° 29) sont réunis les différents résultats obtenus avec l'acide vanillique. Ces résultats sont comparés avec ceux obtenus, dans les mêmes conditions expérimentales, avec l'anthocyanoside de référence.

Le dernier chiffre cité indique le pourcentage moyen d'allongement du temps d'apparition de la tache colorée en présence d'acide vanillique, lorsque ce même taux est égal à 100 % en présence de l'anthocyanoside témoin.

Numéro des lapins	Sexe	Poids en kilogrammes	Pourcentage maximum d'allongement du temps d'apparition de la tache	
			Anthocyanoside	Acide vanillique
C_1	F	3,700	100	85
R_2	M	4,400	116	100
C_2	F	4,400	85	85
R_3	F	3,800	83	66
R_1	F	4,052	111	100
C_3	F	4,310	117	108
Moyenne M			102	90
Intervalle de confiance 95 % $\alpha = t \times \sqrt{\frac{\sum (M - M_o)^2}{n(n-1)}}$			12 %	14 %
Activité pour cent			100	88

fig n° 29

3 - Conclusions

L'examen de ces résultats montre que l'acide vanillique présente, par la méthode utilisée, une activité vitaminique P du même ordre de grandeur que celle des anthocyanosides extraits de Vaccinium Myrtillus utilisés seuls, vu la dispersion normale des résultats expérimentaux, soit 88 p. 100.

D - RESULTAT

Nous avons rassemblé dans le tableau ci dessous (fig n° 30) l'ensemble des résultats obtenus pour les différents acides phénols testés dans des conditions identiques à celles décrites pour l'acide vanillique.

Acides Phénols	Effet angio - protecteur-en pourcentage - obtenu avec l'acide testé (en p. 100)	Pourcentage obtenu pour l'anthocyano-side
Produits de référence		
I - Epicatéchine	97	100
II - Pyrogallol	83	100
Acides hydroxybenzoïques		
III - Acide hydroxy 2 benzoïque	25	100
IV - Acide hydroxy 3 benzoïque	91	100
V - Acide hydroxy 4 benzoïque	57	100
VI - Acide dihydroxy 3, 5 benzoïque	89	100
VII - Acide dihydroxy 2, 4 benzoïque	97	100
VIII- Acide dihydroxy 2, 6 benzoïque	117	100
IX - Acide dihydroxy 3, 4 benzoïque	113	100
X - Acide dihydroxy 2, 5 benzoïque		100
XI - Acide trihydroxy 3, 4, 5 benzoïque	63	100
XII - Acide hydroxy 4 méthoxy 3 benzoïque	88	100
XIII - Acide hydroxy 4 diméthoxy 3, 5 benzoïque	81	100

Acides hydroxyphénylacétiques		
XIV Acide hydroxy 2 phénylacétique	94	100
XI Acide hydroxy 3 phénylacétique	99	100
XVI Acide hydroxy 4 phénylacétique	93	100
XVII Acide dihydroxy 3, 4 phénylacétique	88	100
XVIII Acide dihydroxy 2, 5 phénylacétique	66	100
XIX Acide hydroxy 4 méthoxy 3 phénylacétique	87	100
XX Acide diméthoxy 2, 3 phénylacétique	105	100
Acides hydroxyphénylpropioniques		
XXI Acide hydroxy 3 phénylpropionique	77	100
XXII Acide dihydroxy 3, 4 phénylpropionique.	93	100
Acides hydroxycinnamiques		
XXIII Acide hydroxy 2 cinnamique	87	100
XXIV Acide hydroxy 3 cinnamique	49	100
XXV Acide hydroxy 4 cinnamique	80	100
XXVI Acide dihydroxy 3, 4 cinnamique	99	100
XXVII Acide hydroxy 4 méthoxy 3 cinnamique	77	100
Dimère		
XXVIII Acide chlorogénique	95	100
Mélanges		
XXIX Mélange A	140	100
XXX Mélange B	104	100

fig n° 30

E - CONCLUSION

Ainsi en première approximation, l'effet angioprotecteur mesuré par le test au bleu trypan apparaît comme une propriété commune à tous les acides phénols. Il semble

favorisé par la présence de plusieurs groupements hydroxylés ou dans certains cas méthoxylés. La distance du carbonyle carboxylique au cycle benzénique ne semble jouer ici qu'un rôle secondaire. Enfin nous noterons la possibilité d'obtenir, dans certains cas, une activité plus forte par l'association de plusieurs acides phénols.

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons d'abord rassemblé dans ce travail, un certain nombre de données éparses dans la littérature, concernant les acides phénols, en particulier.

- leurs propriétés physiques,
- leurs propriétés physicochimiques,
- leurs propriétés biochimiques
- et leurs propriétés biologiques.

Le but initial que nous nous étions fixé : la recherche de relations entre ces diverses propriétés, n'a pu être atteint que partiellement. Et il nous a été impossible de dégager des relations simples entre les différents paramètres physiques ou biologiques. Il n'est pas exclu pour autant que des recherches plus approfondies permettent un jour de formuler des équations complexes, faisant intervenir des variables que nous avions négligées. Enfin nous tenons à souligner la prudence qui doit entourer de telles déductions pour de simples raisons d'ordre expérimental : Certaines mesures physiques ou physico-chimiques peuvent être réalisées avec une grande précision tandis que le pouvoir angioprotecteur ne peut être mesuré qu'avec une approximation de l'ordre de 10 % dans les meilleures conditions.

Nous avons formulé à la fin de chacun de nos chapitres expérimentaux, des conclusions partielles que nous croyons utile de reprendre ici en les accompagnant de quelques réflexions.

La pK_A des acides phénols est nettement en rapport avec les phénomènes de chélation, les valeurs les plus basses se rapportent aux composés les plus chélatés, en l'espèce les acides hydroxy 2 benzoïques.

Le pouvoir protecteur vis à vis de l'oxydation de l'acide ascorbique est une propriété commune à tous les acides phénols ; Elle parait indépendante du pK_A et elle est particulièrement élevée pour les composés les plus hydroxylés. Cette constatation rejoint celle de CHAMRAÏ (15) qui - étudiant les polyphénols - affirme que leur activité biologique n'est manifestée que par les composés porteurs d'au moins deux hydroxyles en position ortho.

Le pouvoir angioprotecteur est lui aussi une propriété repandue dans toute la série des acides phénols et nous pouvons conclure comme CHAMRAÏ (15) que des composés de structure différente exercent le même effet sur les capillaires. Il existerait donc, en dehors des flavonoides d'autres composés possèdant des propriétés vitaminiques P.

Nous devons également ajouter que, lors de nos premiers essais, nous avions cru pouvoir formuler une hypothèse séduisante :

Les composés les plus chélatés nous avaient d'abord semblé les moins actifs et on aurait pu penser que la chélation empéchait l'acide phénol d'entrer en contact intime avec un récepteur biologique. Nous avons, par la suite, retrouvé des résultats absolument inverses : De plus il n'est même pas possible d'affirmer que les composés les plus oxhydrylés sont les plus actifs, au sein d'une série homogène comme celle des acides hydroxybenzoïques.

Remarquons enfin qu'un mélange dénommé par nous mélange A présente des effets angioprotecteurs potentialisés.

En conclusion, nous pouvons dire que notre surprise a été grande lorsque, cherchant à comparer l'effet protecteur vis à vis de l'oxydation de l'acide ascorbique et le rôle angioprotecteur des acides phénols, nous avons trouvé plus de discordances que de concordances. Mais cette dernière contradiction n'est peut-être qu'apparente, le pouvoir angioprotecteur étant probablement une réponse globale, résultante d'une série d'effets primaires.

Vu, le 20 Octobre 1969
Le Président de Thèse
P. BASTIDE

Le 23 Octobre 1969
Vu et Permis d'imprimer
N° Ph 6/69
Le Doyen
G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

1 - AMBROSE A. M. et DE EDS F. - J. Pharmacol. Exp. Ther., 1947, 90, 359.

2 - AMBROSE A. M. et DE EDS F. - Fed. Proc., 1947, 6, 306.

3 - ARTHUR J. C. et Mc LEMORE T. A. - J. Agr. Food. Chem., 1956, 4, 553.

4 - BACQ Z. M., CHEYMOL J., DALLEMAGNE M. J., MAZARD R., LA BARRE J., REUSSE J. J., WELSH M. - Pharmacodynamie Biochimique, Masson Ed., 1954, 552 à 554.

5 - BARABOÏ V. A. et MOLDAVSKAYA S. I. - Vrachnebnoe Delo, 1966, 1, 71 à 73. Cité par C. A., 1966, 64, 14831.

6 - BASTIDE P., DASTUGUE G., - Thérapie, 1954, 9, 360.

7 - BATE-SMITH E. C., HUGHES J. C., SWAIN T., - Chem. et Ind. London, 1958, 627.

8 - BELLAMY L. J. - The Infrared Spectra Of Complexe Molécule, Methuen Ed. Bungay, 1964, 168-169.

9 - BOOTH A. N., MURRAY C. N., JONES F. T., DE EDS F.- J. Biol. Chem., 1956, 223, 251.

10 - BOULANGER P., POLONOVSKY J., TAYEAU F., MANDEL P. et BISERTE G. - Biochimie Médicale, Paris, 1968, 8 ed., T. III, 652 - 653.

11 - B.S.M. N° 3124 M., 13 Aout 1962, Boots Pure Drugs Company ltd.

12 - B.S.M. N° 3693 M., COIRRE P. et COIRRE P. - 16 Juillet 1963.

13 - BURGER A. - Medicinal Chemisty. Interscience, New York, 2 ed. 1960, 1.

14 - CANNON C.G. - Spectrochim. Acta, 1958, 10, 341.

15 - CHAMRAÏ E. - J. Physiol.Paris., 1969, 61, 2, 69 à 83.

16 - CLARKE N.E., CLARKE C.N. et MOSHER R.E. - Am. J. Med. Sci. 1958 237, 7.

17 - CLEMETSON C.A.B. et ANDERSEN L. - Annals of the New York Academy of Science., 1966, Sept, 136, 339 à 378.

18 - DAUPHIN G., - Contribution à l'Etude de la dissociation de quelques amides et sulfonamides., Doct. Sciences, Clermont, 1960, 116 p.

19 - DEAN F.M. - Naturally Occuring Oxygen Ring Compounds, Butterworths, London.. 1963, 601 à 609.

20 - DE EDS F., BOOTH A.N., JONES F.T. - J. Biol. Chem., 1957, 225, 615.

21 - DELAUNAY D.M., - Recherches sur l'action bactéricide des acides phénols du vin, Doct. Pharm. Univ., Bordeaux, 1964, Drouillard Ed.

22 - FATTORUSSO N., RITTER O. - Dictionnaire de Pharmacologie Chimique, Masson Ed. Paris 1967.

23 - FLAMANG M., - Nouveaux dérivés des acides cinnamiques et caféiques. Etude des esters d'amino alcools, des amides et des hydrazides obtenus. Thèse Pharm. Etat, Strasbourg, 1968, 116 p.

24 - FLAMMANG M., WERMUTH C.G., SCHREIBER J., BARTH J., CAHN J. et HEROLD M. - Chim. Ther., 1969, 4, 112.

25 - FLAMANG M., WERMUTH C.G., SCHREIBER J., BARTH J., HEROLD M., et CAHN J.,-Chim. Ther., 1969, 4, 120.

26 - FREEDMAN S.O., SHULMAN R., SEHON A.H. et KAYE M. -Can. Med. Assoc. J., 1964, 90, 478.

27 - GAZAVE J.M.,- J. Physiol. 1966, Suppl. 14, 128 pages.

28 - GEISSMAN T.A. - The Chemistry of flavonoïd Compounds, Pergamon Press. Oxford 1962, 529 à 530.

29 - GEISSMAN T.A. - The Chemistry of flavonoïd Compounds, Pergamon Press. Oxford 1962, 259 à 262.

30 - GEISSMAN T.A. - The Chemistry of flavonoïd Compounds. Pergamon. Press, Oxford 1962, 318.

31 - GEISSMAN T.A., - The Chemistry of flavonoïd Compounds. Pergamon Press. Oxford 1962, 547.

32 - GRIFFITHS L.A. - Biochem. J., 1969, 113, 603.

33 - HARTMAN W.J., AKAWIE R.I. et CLARK W.G. - J. Biol. Chem., 1955, 216, 507.

34 - HEILBRON I. - Dictionary of Phenolic Compounds, Eyre and Spottiswoode, E. et F.N. Spoon Ed. London 1968.

35 - HEILBRON I. - Dictionary of Phenolic Compounds. Eyre and Spottiswoode. E. et F.N. Spoon Ed. London 1968.

36 - HENIS Y., TAGARY H., VOLCANI R. - Appl. Microbiol., 1964, 12, 204 à 209.

37 - HUNTER L. - Chem. et Ind., 1953, T.17, 154.

38 - JEMINET G. et KERGOMARD A. - Bull. Soc. Chim. de France, Sept. 1967, 9, 3225 et 3241 à 3243.

39 - KAPENATIDIS I., MIRIMANOFF A. - Pharm. Acta. Helv. , 1964, 39, 259 à 281.

40 - KEITH E.S. et POWERS J.J. - Appl. Microbiol., 1965, 13, 308 à 313.

41 - KETELAAR J.A.A. - Liaisons et Proprietés Chimiques Ed. Franc. Dunod., Ed. Paris 1960, 339.

42 - LEBEAU P. et JANOT M.M. - Traité de pharmacie Chimique, Masson. Ed., Paris 1956, T II, 1015 à 1124.

43 - MARTIN R. - Nature, 1950, 166, 474.

44 - MARTIN R. et BETOUX J.M. - Chim. Anal., 1968, T 50, 65 à 76.

45 - MASQUELIER J. - Prod. et Prob. Pharm., 1965, 20, 259.

46 - MATHIEU P. et REVOL L. - Ann. Biol. Clin., 1968, 26, 383 à 399.

47 - PARROT J.L., COTEREAU H.Y. - C.R. Soc. Biol., Paris , 1946, 140, 91.

48 - PARROT J.L., COTEREAU H.Y. - Arch. Int. Physiol., 1946, 54, 197 à 200.

49 - PARROT J.L., GALMICHE P. - Bull. Med., 1945, 29, 413 à 422.

50 - PARROT J.L., GALMICHE P. et COTEREAU H.Y. - C.R. Soc. Biol., Paris , 1945, 139, 496.

51 - PARROT J.L. et CANU P. - Arch. Int. Physiol., 1964, 152, 1 - 2, 233 à 238.

52 - PELLERIN F. et CHASSE T.R. - Ann. Pharm. Franc., 1968, T.26, 421 à 428.

53 - PELTIER D. - Bull. Soc. Chim. Franç., 1958, 7, 994 à 998.

54 - PETERS W. J., WARREN R. A. J. - D. B. A., - 1968, 165, 225 à 232.

55 - PIMENTEL G. C. et Mc. CLELLAN A. L. - The Hydrogen Bond, Freeman and Co., Ed. San Francisco, California, 1960.

56 - PISANO J. J., CROUT J. R., ABRAHAM D. - Clin. Chem. Acta, 1962, 7, 281 à 291.

57 - PLA J., VILLE A., PACHECO H., - Bull. Soc. Chim. Biol., 1967, 49, 395.

58 - POLIKOFF R., LIBERMAN M., COCHRAN K. W. et ANDREA M. P. - Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1965, 561.

59 - POURRAT H., BASTIDE P., DORIER P., POURRAT A., TRONCHE P. - Chim. Thérap., 1967, II, 33.

60 - REID J., WATSON R. D., COCHRAN J. B. et SHROULL D. H. - But. Med. J., 1950, II, 321.

61 - ROBERTS J. D. et CASERIO M. C. - Chimie Organique Moderne, trad. franc., Ediscience, Paris 1968, 642.

62 - RUCKER W., PAUPARDIN C., C. R. Acad. Sc. Paris, 268, Série D, 1279 à 1281.

63 - RUYSSEN R., MOLLE L. - Principes de Chimie Physique Masson Ed., Paris 1965.

64 - SCHELINE R. R. - J. Pharm. Pharmacol. 1966, 18, 664.

65 - SCOTT A. I. - Ultraviolet Spectra of Natural Products, Pergamon Press, Oxford, 1964, 116 à 119.

66 - STROBEL H. A. - Les Méthodes Physiques en Chimie, Masson Ed., Paris 1962.

67 - SYKES P. - Initiation aux Mécanismes Réactionnels en Chimie Organique, Dunod Ed., Paris 1966, 45.

68 - TORALD SOLLMANN - Manual of Pharmacology, 8° Ed., Avril 1964, 742 à 743.

69 - U. S. P. "Ascobic Acid", Sept 1965, 1083.

70 - U. S. P. "Ascobic Acid Injection", Sept. 1965, 47.

71 - VAUGHAN P. F. T. et BUTT V. S. - Biochem. J., 1969, 113, 109.

72 - VILLAKO K. P., SUGASEPP E. V., VILLAKO L. A., - Vopr. Med. Khim. 1963, 9, 309 à 311. D'après C. A. 1963, 59, 15587.

73 - VOLMAR Y. et WAGNER A. - J. Phys. et Chim., 1939, T. 30, 364.

74 - WATANABE Y., AKIRA J., YOSHIMA YASUYOSHI T. - Agr. Biol. Chem., Tokyo 1965, 29, 90 à 93.

75 - WEURMAN C. et SWAIN T. - Nature 1965, 172, 105.

76 - WILLIAMS R. T. - Metabolism of phenolics in animals. In
HARBORNE J. B. - Biochemistry of Phenolic Componuds, Academic Press, London 1964, 204 à 208.

77 - WINDER C. V., WAX J., BURR. V., BEEN M. et ROSIERE C. E. - Arch. Int. Pharmacod., 1958, 116, 261.

TABLE DES MATIERES

AVANT PROPOS..... 1

INTRODUCTION..... 3

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I GENERALITES..... 7

II CHIMIE DES ACIDES PHENOLS..... 9

A - Caractères organoléptiques..... 9
B - Propriétés physiques..... 9
C - Propriétés chimiques..... 10

III ORIGINE DES ACIDES PHENOLS..... 13

A - Répartition dans la nature..... 13
B - Apparition d'acides phénols au cours de différents métabolismes..... 13
C - Acides hydroxybenzoïques 25
D - Acides hydroxycinnamiques 27

IV DEVENIR DES ACIDES PHENOLS ET DES COMPOSES FLAVONIQUES DANS L'ORGANISME..... 29

V ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES DES ACIDES PHENOLS 33

A - Propriétés antibactériennes..... 33
B - Propriétés antipyrétiques, analgésiques antiinflammatoires, antirhumatismales... 36
C - Propriétés angioprotectrices..... 37
D - Propriétés biologiques diverses..... 38
E - Propriétés biochimiques..... 39

DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES EXPERIMENTALES

I INTRODUCTION..... 43

II CLASSIFICATION DES ACIDES PHENOLS ETUDIES..... 44

A - Produits de référence..... 44
B - Acides hydroxybenzoïques et dérivés..... 45
C - Acides hydroxyphénylacétiques et dérivés..... 48
D - Acides hydroxyphényl propioniques..... 50
E - Acides hydroxycinnamiques..... 50
F - Dimères..... 52
G - Associations d'acides phénols..... 52

III DETERMINATION DES PK_A..... 53

A - Généralités..... 53
B - Protocole..... 53
C - Résultat détaillé d'une expérience..... 55
D - Résultats..... 58
E - Conclusion..... 59

IV ETUDE DE L'ABSORPTION DANS L'ULTRA VIOLET..... 61

A - Généralités..... 61
B - Principe et technique..... 61
C - Résultat détaillé d'un test..... 61
E - Résultats..... 62

V ETUDE DE L'ABSORPTION DANS L'INFRAROUGE. 69

A - Introduction..... 69
B - Méthode..... 69
C - Conclusion..... 71

VI ACTION DES ACIDES PHENOLS SUR L' OXYDATION DE L'ACIDE l-ASCORBIQUE IN VITRO..... 73

A - Généralités..... 73
B - Technique..... 73
C - Résultat détaillé d'une expérience..... 76
D - Résultats..... 79

VII ACTIVITE DES ACIDES PHENOLS SUR LA PERMEABILITE CAPILLAIRE, ROLE ANGIOPROTECTEUR..... 81

A - Généralités..... 81
B - Technique..... 81
C - Résultat détaillé d'une expérience..... 84
D - Résultats..... 88
E - Conclusion..... 89

CONCLUSIONS GENERALES..... 91

BIBLIOGRAPHIE 95